

Beiträge zur Klassifizierung und Taxonomie der Actinoplanaceen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Dietmar Schäfer
aus Neuhof, Kr. Fulda

Marburg/Lahn
Januar 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)

Beiträge zur Klassifizierung und Taxonomie der Actinoplanaceen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Dietmar Schäfer

aus Neuhof, Kr. Fulda

Marburg/Lahn
Januar 1973

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg (Lahn)



Vom Fachbereich Biologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn als

Dissertation angenommen am 26. 1. 1973

Tag der mündlichen Prüfung am 7. 2. 1973

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Henssen

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. A. von Stosch

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	7
B. <u>Bisherige Ergebnisse der Actinoplanaceen-</u> <u>Forschung</u>	11
1. Kenntnisse von sporangienbildenden Actino- myceten vor 1950	11
2. Die von 1950 bis heute beschriebenen Gat- tungen und Arten der Actinoplanaceen	12
2.1. Actinoplanes	12
2.2. Streptosporangium	14
2.3. Ampullariella	17
2.4. Amorphosporangium	18
2.5. Spirillospora	19
2.6. Pilimelia	19
2.7. Dactylosporangium	21
2.8. Planomonospora	21
2.9. Planobispora	22
2.10. Kitasatoa	22
2.11. Microellobosporia (Macrospora)	23
2.12. Elytrosporangium	24
2.13. Microechinospora	24
2.14. Intrasporangium	25
3. Vorschläge und Kriterien zur Gruppierung der Gattungen	25
C. <u>Material und Methoden</u>	35
1. Allgemeines	35
2. Anreicherung und Isolierung	36
2.1. Actinoplanaceen mit Zoosporen	36
2.2. Actinoplanaceen mit Aplanosporen	38
2.3. Thermophile Actinoplanaceen (Anreicherungsversuch)	38
2.4. Arbeitsschema	40
3. Untersuchtes Material	41

4. Nährmedien	41
5. Sterilisation	44
6. Kennzeichnung, Haltung und Aufbewahrung der Stämme	45
7. Morphologische Untersuchungen	46
8. Physiologische Untersuchungen	48
9. Vergleichskulturen	49
D. <u>Ergebnisse und Diskussion</u>	51
1. Anreicherung und Isolierung	51
1.1. Die Häufigkeit sporangienbildender Actinomycceten in den untersuchten Proben	51
1.1.1. Überblick	51
1.1.2. Actinoplanaceen mit Zoosporen	53
1.1.2.1. Anreicherung mit Pollen	53
1.1.2.2. Anreicherung mit Pilzpulver	54
1.1.2.3. Anreicherungsversuche mit Insektenflügeln, Cellulosefasern und Seide	55
1.1.2.4. Anreicherung mit Keratin	57
1.1.3. Actinoplanaceen mit Aplanosporen	58
1.1.4. Thermophile Actinoplanaceen (Anreicherungsversuch)	60
1.2. Die Eignung verschiedener Nährböden zur Isolierung	61
1.2.1. Allgemeines	61
1.2.2. Pollengeköderte Actinoplanaceen	63
1.2.3. Keratingeköderte Actinoplanaceen	64
1.2.4. Actinoplanaceen von Ausstrich-Platten	67
1.3. Zusammenfassung der Isolierungsergebnisse	68
2. Charakterisierung und Klassifizierung der Isolate	71
2.1. Allgemeines	71
2.2. Morphologische Merkmale	73
2.2.1. Mycel	73
2.2.1.1. Substratmycel	74
2.2.1.2. Luftmycel	76
2.2.2. Sporangien	81
2.2.2.1. Größe, Form und Anordnung	81

2.2.2.2. Kulturbedingungen für die Sporangienbildung	87
2.2.3. Sporangiosporen	92
2.2.3.1. Allgemeines zu Größe und Form	92
2.2.3.2. Aplanosporen	94
2.2.3.3. Zoosporen	97
2.2.3.4. Zur Funktion der Sporen	102
2.2.3.5. Keimung	102
2.3. Zuordnung der Stämme zu den Gattungen auf Grund ihrer morphologischen Merkmale	104
2.3.1. Vorbemerkungen	104
2.3.2. Actinoplanes	105
2.3.3. Ampullariella	106
2.3.4. Pilimelia	107
2.3.5. Planomonospora	108
2.3.6. Spirillospora	109
2.3.7. Streptosporangium	109
2.4. Koloniemerkmale	109
2.4.1. Allgemeines	109
2.4.2. Actinoplanes	111
2.4.2.1. Größe und Gestalt der Kolonien	111
2.4.2.2. Farbstoffe	116
2.4.3. Ampullariella	118
2.4.4. Pilimelia	120
2.4.5. Planomonospora	123
2.4.6. Spirillospora	124
2.4.7. Streptosporangium	125
2.4.7.1. Merkmale der beschriebenen Arten	125
2.4.7.2. Färbung des Luftmycel	132
2.4.7.3. Jodininbildende Isolate	133
2.4.7.4. Isolate mit karminrotem Substratmycel	134
2.4.7.5. Isolate mit purpurfarbenem substratlöslichem Farbstoff	138
2.4.7.6. Merkmale anderer Isolate	142
2.5. Physiologische Merkmale	143
2.5.1. Vorbemerkungen	143
2.5.2. Eigenschaften beschriebener Arten	144
2.5.3. Melaninbildung	148

2.5.4.	Gelatineverflüssigung	153
2.5.5.	Milchpeptonisierung	155
2.5.6.	Tyrosin-Auflösung	157
2.5.7.	Bildung von Nitrit aus Nitrat	159
2.5.8.	Wachstumsverhalten bei verschiedenen Temperaturen	162
2.5.9.	Vitaminbedarf	164
2.5.10.	Kochsalz-Verträglichkeit	166
2.5.11.	Stärkeabbau	168
2.5.12.	Celluloseabbau	169
2.5.13.	Verwertbarkeit anderer Kohlenstoffquellen	172
2.5.14.	Zusammenfassung der physiologischen Eigenschaften der untersuchten Streptosporangium-Stämme	176
2.6.	Versuch einer Zuordnung der bisher nicht eingeordneten Streptosporangium-Isolate	180
3.	Beschreibung der neuen Arten	185
3.1.	Actinoplanes penicillatus	185
3.1.1.	Diagnose	185
3.1.2.	Bemerkungen und Diskussion	187
3.2.	Pilimelia columellifera	190
3.2.1.	Diagnose	190
3.2.2.	Bemerkungen und Diskussion	193
3.3.	Spirillospora rubra	199
3.3.1.	Diagnose	199
3.3.2.	Bemerkungen und Diskussion	201
4.	Zur Verbreitung der Actinoplanaceen	204
E.	<u>Zusammenfassung</u>	210
F.	<u>Literaturverzeichnis</u>	219
G.	<u>Abbildungen</u> , Tafeln 1 - 40	

A. E I N L E I T U N G

Im Jahre 1949 berichtete J. N. COUCH in einer ersten kurzen Veröffentlichung über die Entdeckung einer neuen Organismengruppe, die zweifelsohne zur Ordnung der *Actinomycetales* gehörte, sich aber von den damals bekannten Actinomyceten durch den Besitz von Sporangien erheblich unterschied. Die meisten dieser neu-gefundenen Strahlenpilze hatten darüberhinaus auch bewegliche Sporangiosporen und wichen somit in einer weiteren wichtigen Eigenschaft von den früher beschriebenen Vertretern der Ordnung ab, denn bis dahin war das Fehlen schwimmfähiger begeißelter Zellen als ein charakteristisches Merkmal der Actinomyceten angesehen worden.

COUCH hielt die differierenden Merkmale für bedeutend genug, um der neuen Strahlenpilzgruppe den Rang einer Familie zu geben, die er als *Actinoplanaceae* - benannt nach der im Jahre 1950 beschriebenen ersten Gattung dieser sporangienbildenden Organismen - neben die Familien der *Mycobacteriaceae*, *Actinomycetaceae* und *Streptomycetaceae* stellte (COUCH, 1955 a, b). Wichtigstes Kennzeichen dieser Familie sind die Sporangien, die je nach Gattung eine bis zahlreiche begeißelte oder unbegeißelte Sporen enthalten.

Obwohl in den ersten Jahren nach dem Auffinden der Actinoplanaceen nur wenige Artbeschreibungen veröffentlicht wurden (COUCH, 1950, 1955 a), deutete schon bald vieles darauf hin, daß die neue Gruppe im Erdboden nicht selten sein konnte und wahrscheinlich in zahlreichen, gut unterscheidbaren Formen vorkommen würde. So verfügte COUCH bereits zu Beginn des Jahres 1954 über ungefähr 50 Stämme, die etwa 30 verschiedenen Arten zuzuordnen waren und aus Böden unterschiedlichster Klimazonen stammten (COUCH,

1954). KARLING (1954), GAERTNER (1955) und ROTHWELL (1957) berichteten über keratinophile, mit Haaren köderbare Organismen aus der Verwandtschaft der Actinoplanaceen, die allerdings damals nicht in Reinkultur genommen werden konnten; VAN BRUMMELEN u. WENT (1957) teilten etwa zwei Jahre nach Beschreibung der ersten *Streptosporangium*-Art (COUCH, 1955 a) die Isolierung von 17 weiteren Stämmen dieser Gattung mit, die sich zum Teil sehr stark in ihrer Koloniefarbe unterschieden und mit großer Wahrscheinlichkeit mehreren Arten angehörten, von den Autoren aber nicht mit Namen und Diagnose ausgestattet wurden.

Als dann vom Jahre 1960 an in schnellerer Folge vor allem in den Arbeiten von NONOMURA u. OHARA (1960), COUCH (1963), KANE (1966), THIEMANN u. Mitarb. (1967 a, b) und THIEMANN u. BERETTA (1968) eine Reihe neuer Arten und Gattungen beschrieben wurde, zeigte sich mehr und mehr, daß die Actinoplanaceen in der Tat als eine überaus formenreiche und weit verbreitete Familie anzusehen sind, von der offensichtlich nur erst ein Teil der Arten bekannt und taxonomisch bearbeitet war. Eine intensive Beschäftigung mit dieser Organismengruppe schien daher nötig, sollten die noch lückenhaften Kenntnisse vervollständigt werden. Hierzu einen Beitrag zu leisten, war das Anliegen dieser Arbeit.

Angeichts der erwähnten Veröffentlichungen, die einerseits eine gezielte Suche nach unbekannten Vertretern der Familie wünschenswert und lohnend erscheinen lassen mußten, andererseits die Notwendigkeit einer Bearbeitung der nur unvollständig beschriebenen Formen deutlich werden ließen, stellte sich die Aufgabe, eine größere Zahl von Böden und anderen Substraten auf das Vorkommen von Actinoplanaceen zu prüfen, die Anreicherung und Reinzüchtung unbeschriebener Organismen zu versuchen und insbesondere auch die Reinkultur der keratinophilen Actinoplanaceen

anzustreben.

Zur Verwirklichung dieses Vorhabens mußte die Lösung einer Reihe von Einzelproblemen in Angriff genommen werden. Vorbedingung für den Aufbau einer taxonomisch zu bearbeitenden Sammlung von Stämmen war die Kenntnis und Beherrschung geeigneter Anreicherungsverfahren und erfolgsbringender Reinzuchtmethoden. Beim Weiterkultivieren mußte darauf geachtet werden, daß die charakteristischen Merkmale der einzelnen Isolate auch unter den gewählten Züchtungsbedingungen erhalten blieben; vor allem durfte die Fähigkeit zur Sporangienbildung nicht verlorengehen. Von besonderer Bedeutung waren Fragen der Klassifizierung, kam es doch darauf an, die isolierten Stämme entweder bereits bekannten Arten zuzuordnen oder als noch nicht beschriebene Organismen zu erkennen, Unterschiede zu verwandten Formen aufzuzeigen und die Isolate sinnvoll einzugliedern. Das machte es notwendig, einzelne Merkmale auf ihre Eignung zur Artentrennung zu untersuchen und sich mit Problemen der Gattungs- und Artenbegrenzung auseinanderzusetzen.

In ihrem Aufbau folgt die vorliegende Arbeit weitgehend dem durch die Reihenfolge der Arbeitsschritte vorgegebenen Weg. Vorangestellt sind ein kurzer geschichtlicher Abriß und eine Übersicht über die beschriebenen Gattungen und Arten der *Actinoplanaceae*. Der Übersicht schließt sich - nach den methodischen Angaben - die Besprechung der beim Anreichern und Isolieren erzielten, vorwiegend die Eignung der angewendeten Verfahren und benutzten Medien betreffenden Resultate an. Der darauffolgende, umfangreichste Abschnitt der Arbeit ist der Charakterisierung und Klassifizierung der isolierten Stämme gewidmet. Zunächst wird an Hand der wichtigsten mikromorphologischen Merkmale, die in einzelnen Kapiteln nacheinander abgehandelt werden; eine Gruppierung der Isolate vorgenommen und ihre Zuordnung zu bestehenden

Gattungen und Arten versucht. Da sich die Gattungszugehörigkeit der Isolate mit Hilfe dieser Merkmale feststellen ließ, erfolgt die anschließende Besprechung der Kulturcharakteristika und physiologischen Eigenschaften getrennt nach den einzelnen Gattungen. Von den Isolaten, die nicht mit den bekannten Arten übereinstimmen, werden einige als neue Arten beschrieben. Mit Bemerkungen und Angaben zur Ökologie der Actinoplanaceen schließt die Arbeit.

B. B I S H E R I G E E R G E B N I S S E D E R
A C T I N O P L A N A C E E N - F O R S C H U N G

1. Kenntnisse von sporangienbildenden Actinomyceten
vor 1950

Als im Jahre 1887 ZOPF eine Arbeit mit dem Titel "Über einige niedere Algenpilze (Phycomyceten) und eine neue Methode ihre Keime aus dem Wasser zu isolieren" veröffentlichte, hatte er mit der dort beschriebenen Methode eigentlich bereits die wesentlichen Voraussetzungen für die Entdeckung der Actinoplanaceen geschaffen. "Diese Methode besteht darin", schreibt er, "daß man die Keime vermittelst isolierter Pflanzenzellen, wie Pollenkörner, Farnsporen, Pilzsporen etc., die man einfach dem betreffenden Wasser aufsetzt, einfängt und sich dieselben weiterentwickeln lässt bis zur Fructification."

Man kann wohl mit einiger Gewißheit annehmen, daß in der Folgezeit Actinoplanaceen auf diese Weise von Phycomycetenforschern zumindest gelegentlich mitgeködert, aber nicht weiter beachtet wurden. Erst von COUCH, mehr als 60 Jahre später, "on February 13, 1948, in examining a piece of filter paper which had been in one of the dishes for several weeks an unusual type of organism was observed consisting of minute globose to subglobose bodies attached to the filter paper fibers by short delicate stalks."

(COUCH, 1949) Er nennt seine Entdeckung "purely an accident". 1950 folgte die Beschreibung der ersten Art, *A c t i n o p l a n e s p h i l i p p i n e n s i s* (COUCH, 1950). COUCH köderte vor allem mit Pflanzenmaterial, so mit Paspalum-Gras und insbesondere mit Liquidambar-Pollen (COUCH, 1954).

Schon bald nach COUCHs ersten Veröffentlichungen berichtete KARLING (1954), er habe mehrfach, zum ersten Male 1938, mit Keratinsubstanzen (Haaren, Schlangenhaut) einen sporangienbildenden Organismus geködert, der mit den Actino-

planaceen verwandt zu sein scheine.

Um eine Beobachtung von Actinoplanaceen vor COUCH könnte es sich auch bei der Beschreibung des "Chytridiomyceten" *Myceliocytrium fulgens* (JOHANSON, 1945) handeln. COUCH selbst hält es für sehr wahrscheinlich (1950).

Vor einigen Jahren machte H. A. LECHEVALIER (1968) auf eine Arbeit von T. V. SHCHEPKINA (1940) aufmerksam, in der offensichtlich schon neun Jahre vor COUCHs Veröffentlichung sporangienbildende Actinomyceten beschrieben wurden. SHCHEPKINA isolierte drei Arten, die auf Baumwollfasern Sporangien bildeten, und beschrieb sie als *Micro-polispora cellulosisolvens*, *M. disjuncta* und *M. spiralis*. Die Arbeit war bis zu ihrer Wiederentdeckung im Jahre 1965 völlig in Vergessenheit geraten.

Soweit bisher bekannt, waren also vier Forscher in der Zeit von 1938 bis 1949 auf sporangienbildende Actinomyceten gestoßen: KARLING 1938 (vgl. KARLING, 1954), SHCHEPKINA 1940, JOHANSON 1945 und COUCH 1948 (vgl. COUCH, 1949). Der sorgfältigen Bearbeitung durch COUCH ist es zu verdanken, daß die Wissenschaft auf diese neuen Organismen aufmerksam wurde.

2. Die von 1950 bis heute beschriebenen Gattungen und Arten der Actinoplanaceen

2.1. Actinoplanes COUCH (1950)

Die Gattung stellt nach COUCH (1963) die artenreichste und schwierigste Gruppe der Familie dar. COUCH beabsichtigt eine Monographie und die Aufteilung in mehrere Untergruppen. Entsprechend ihrem häufigen Vorkommen und ihrer weiten Verbreitung waren die zuerst beschriebenen

sporangienbildenden Actinomyceten Vertreter dieser Gattung.

Zur Gattung gehören Actinoplanaceen mit lophotrich be-
geißelten kugeligen bis nahezu kugeligen Sporangiosporen.
Die Sporangien können von Art zu Art in Größe und Gestalt
stark variieren. Sie enthalten zahlreiche Sporen, die in
fast geraden Ketten, in Spiralen oder Knäueln oder auch
unregelmäßig angeordnet sind. Luftmycel ist gewöhnlich
nicht vorhanden. Für die Typus-Art *Actinoplanes
philippinensis* (1950) gibt COUCH folgende
Hauptkennzeichen (nach Bergey's Manual, 1957) an: überwie-
gend kugelige Sporangien, gewöhnlich auf langen, unver-
zweigten Traghyphen; auf Czapek-Agar geringes und flaches
Wachstum, deutliche Palisadenhyphen auf diesem Nährboden;
ein dunkelbraunes lösliches Pigment auf Kartoffel-Glucose-
Agar.

1963 folgte die Beschreibung von zwei weiteren Arten der
Gattung durch COUCH.

A. utahensis: Sporangien von sehr unregelmäßi-
ger Gestalt, Sporen im Sporangium abgerundet, ohne vorhe-
rige Anfärbung nur schwer zu sehen, Kolonien auf Czapek-
und Czapek-Pepton-Agar kräftig aprikosen-orange.

A. missouriensis: Sporangien nahezu kuge-
lig, mit ziemlich dicker Wand; Sporen schwimmen meist
langsam; Kolonien kräftig orange gefärbt auf Czapek-,
Pepton-Czapek-, Casein-, Tyrosin- und Haferflocken-Agar.

1964 beschrieben KALAKUTSKII und KUZNETSOV eine *Ac-
tinoplanes*-Art, die im Gegensatz zu den vorher
genannten Luftmycel entwickelt: *A. armeniacus*.
Die wichtigsten Merkmale sind: unregelmäßig geformte
Sporangien unmittelbar auf der Kolonieoberfläche, außer-
dem auf manchen Nährböden weißes Luftmycel mit Konidio-
sporen. (Die Fähigkeit zur Luftmycelbildung geht bei nor-
malen Kulturbedingungen leicht verloren.) Sporangiosporen

oval bis rundlich, begeißelt (laut Beschreibung peritrich).

Dieser Beschreibung folgte 1966 eine weitere Veröffentlichung über einen konidienbildenden *A c t i n o -*
p l a n e s - Stamm (WILLOUGHBY).

Die letzte Artbeschreibung stammt von THIERMANN u. Mitarb. (1969): *A. b r a s i l i e n s i s*. Kennzeichen sind: kein Luftmycel; stark unregelmäßige, häufig schirmförmige Sporangien; Sporen rundlich bis stäbchenförmig; keine Melanin- und H_2S -Bildung, keine Tyrosin-Hydrolyse.

2.2. *S t r e p t o s p o r a n g i u m* COUCH (1955 a)

Die Gattung weist bisher die größte Zahl an beschriebenen Arten auf, obwohl morphologische Unterschiede zwischen den einzelnen Arten meist sehr gering oder z. T. auch gar nicht bekannt sind. Die Abgrenzung erfolgt fast nur nach physiologischen Merkmalen.

Typus-Art ist *S. r o s e u m* (COUCH, 1955 a). Gattungsscharakteristika sind unbegeißelte Sporen, die in meist kugeligen Sporangien gebildet werden, und ein zumindest auf manchen Nährböden gut ausgeprägtes Luftmycel (Ausnahme *S. s i b i r i c u m*). *S. r o s e u m* hat, wenn Sporangien vorhanden sind, rosafarbenes Luftmycel. Typisch für die Art ist ein mehr oder weniger bräunlich-rotes bis schmutzig-purpurnes lösliches Pigment auf stärkehaltigen Nährböden (Haferflocken-Agar, Emerson's Agar).

1957 berichteten VAN BRITTEMLEN und WENT über *S t r e p -*
t o s p o r a n g i u m - Isolierungen in den Niederlanden. Ihre Arbeit enthält keine Neubeschreibungen, gibt aber eine Schilderung der Sporangienentwicklung.

Vier neue Arten beschrieben NONOMURA und OHARA 1960:
S. a l b u m mit weißem Luftmycel, *S. v i r i d i -*

a l b u m mit grünlich-weißem oder gelblich-grauem Luftmycel, *S. a m e t h y s t o g e n e s*, eine auf Haferflocken-Agar violette Kristalle bildende Art, und *S. v u l g a r e*: Luftmycel blaß rosa bis rosa; ohne charakteristisches lösliches Pigment auf Haferflocken-Agar, höchstens blaß gelb bis gelb; keine violetten Kristalle.

1965 folgte die Beschreibung von *S. r u b r u m* durch POTEKHINA. Die Art ist durch dunkelkarminrotes Substratmycel auf Haferflocken-Agar gut charakterisiert. Runde bis rundliche Sporen sind neben länglichen häufig.

Im gleichen Jahr stellte GUPTA einen Actinomycetenstamm zur Gattung, dessen "sporangia have the tendency to fuse together". Er bezeichnete den Organismus als *S. i n d i a n e n s i s*. Die Zugehörigkeit von *S. i n d i a n e n s i s* zur Gattung ist indessen wegen stark abweichender Merkmale sehr zweifelhaft, insbesondere deswegen, weil die verschmelzenden Gebilde keine echten Sporangien mit begrenzender Wand zu sein scheinen (SCHÄFER, 1969).

Als Produzent des Antibiotikums Sporaviridin (OKUDA, ITO et al., 1966) wurde *S. v i r i d o g r i s e u m* beschrieben (OKUDA, FURUMAI et al., 1966). Auffällig sind die für diese Gattung ungewöhnlich großen Sporangien (20 - 48 μ , durchschnittlich 29 μ) und die außerordentlich kleinen Sporen (0,2 - 0,4 μ). Das hell grünlichgraue Luftmycel zerfällt in kurze stäbchenförmige Konidien.

Aus dem gleichen Arbeitskreis stammt die Beschreibung von *S. a l b i d u m* (FURUMAI et al., 1968). Die Art fügt sich in der Größe und Form ihrer Sporangien und Sporen besser in die Reihe der übrigen Arten ein. Die Farbe des Luftmycels hat sie mit *S. a l b u m* gemeinsam, unterscheidet sich aber durch größere Sporangien (durchschnittlich 25 μ), durch Nitrat-Reduktion und durch Nichtver-

flüssigung von Gelatine.

S. longisporum (SCHÄFER, 1969) hat stäbchenförmige, längere Sporen als die anderen beschriebenen Arten, auf den meisten Nährböden kräftig rotes bis bräunlich rotes Substratmycel, rosa gefärbtes Luftmycel und kein lösliches Pigment.

Erhebliche Abweichungen von den Gattungsmerkmalen zeigt *S. sibiricum* (GAUZE et al., 1969). Luftmycel wird auf keinem der getesteten Nährböden gebildet, wohl aber ein melanoides Pigment, das für *Streptosporangium* ebenfalls ungewöhnlich ist. Für die Einordnung in die Gattung spricht lediglich, daß eine Beißelung der Sporen nicht festgestellt werden konnte. Der einzige bisher bekannte Stamm dieser Art bildet das Antibiotikum Sibiromycin (GAUZE et al., 1969).

Ebenfalls im Jahre 1969 beschrieben NONOMURA und OHARA (1969 b) zwei weitere Arten: *S. pseudovulgare* - von *S. vulgare* durch Wachstum bei 42°C sowie durch fehlenden Rhamnose- und Inositabbau unterschieden - und *S. nondiastaticum*, eine Art, die in der rosaroten Luftmycelfarbe, im Wachstumsvermögen bei 42°C und einigen anderen Merkmalen mit *S. pseudovulgare* übereinstimmt, aber durch größere Sporangien (10 - 15 µ statt 7 - 10 µ) und fehlende Stärkehydrolyse abweicht.

Von mehreren Arten sind Varietäten beschrieben worden: *S. album* var. *thermophilum* MANACHINI et al. (1965) hat ein Temperaturminimum von 37 - 45°C, ein Optimum von 50 - 55°C und ein Maximum von ungefähr 70°C.

S. amethystogenes var. *nonreducens* PRAUSER et ECKARDT (1967) reduziert Nitrat nicht, peptonisiert aber Lackmusmilch.

S. viridialbum var. *reducens*

NONOMURA et OHARA (1969 b) besitzt die Fähigkeit zur Nitratreduktion und zum Inositabbau.

S. viridogriseum var. *kofuense*
NONOMURA et OHARA (1969 b) hat nur 12 - 20 μ große Sporangien und reduziert Nitrat nicht. Die Varietät produziert Chloramphenicol (TAMURA et al., 1971).

2.3. Ampullariella COUCH (1964)

Die Gattung mit ihren insgesamt vier Arten wurde 1963 von COUCH beschrieben, und zwar zunächst als *Ampulla-ria*. Da dieser Name aber bereits für eine Gattung der Fungi imperfecti vergeben war, konnte er nicht beibehalten werden. COUCH änderte daher *Ampullaria* in *Ampullariella* um (1964). In ihrer Häufigkeit steht die Gattung nach *Actinoplanes* an zweiter Stelle (COUCH, 1963). Als Hauptkennzeichen gelten die lophotrich begeißelten stäbchenförmigen Sporen, die im Sporangium in längsgerichteten, parallel laufenden Ketten angeordnet sind. COUCH gibt in der Gattungsdiagnose nur eine polare Geißel an. Anhand elektronenmikroskopischer Aufnahmen konnte aber später eine lophotriche Begeißelung eindeutig nachgewiesen werden (KANE, 1966; HIGGINS et al., 1967). Typus-Art ist *A. regularis*.

Zur Charakterisierung der vier Arten *A. regularis*, *A. campanulata*, *A. lobata* und *A. digitata* sei hier der Schlüssel wiedergegeben, den COUCH der Artenbeschreibung voranstellte:

- A. Die Mehrzahl der Sporangien von mittlerer Größe,
5 - 14 x 8 - 30 μ , flaschenförmig, zylindrisch
..... *A. regularis*
- B. Sporangien nur selten zylindrisch..... C.
- C. Sporangien mittelgroß, 5 - 15 x 6 - 12 μ , meistens
glockenförmig *A. campanulata*
- C. Sporangien groß, 4 - 20 x 12 - 26 μ , meistens unre-
gelmäßig, gelappt oder fächerförmig im Längs-

schnitt A. l o b a t a
C. Sporangien klein, 3 - 9 x 6 - 14 μ , meistens gefin-
gert A. d i g i t a t a .

2.4. A m o r p h o s p o r a n g i u m COUCH (1963)

Auch diese Gattung geht auf COUCH zurück. Ausschlaggebend für die Abgrenzung der damals einzigen Art (2 Isolate) von der ähnlichen Gattung A c t i n o p l a n e s waren vor allem die unbeweglichen Sporen und die stark unregelmäßig gestalteten Sporangien.

Typus-Art ist A. a u r a n t i c o l o r mit kurz stäbchenförmigen Sporen.

1967 folgte die Beschreibung einer zweiten Art, A. g l o b i s p o r u s , durch THIEMANN (1967). Sie unterscheidet sich durch kugelige Sporen und in einigen physiologischen Merkmalen von der Typus-Art.

Ein Jahr später konnte KANE HANTON (1968) am Typus-Stamm (253 COUCH) nachweisen, daß die Sporen von A. a u r a n t i c o l o r unter geeigneten Bedingungen schwimmfähig sind und ein polares Geißelbüschel tragen. Ob der verbliebene geringfügige Unterschied in der Sporenform (A c t i n o p l a n e s : kugelig bis ellipsoid; A m o r p h o s p o r a n g i u m : meist kurz stäbchenförmig) und in der Sporangien-gestalt (A c t i n o p l a n e s : kugelig bis unregelmäßig; A m o r p h o s p o r a n g i u m : stark unregelmäßig) ausreicht, um die Gattung weiterbestehen zu lassen, ist nunmehr fraglich (vgl. auch LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 a). Zellwanduntersuchungen haben ergeben, daß A c t i n o p l a n e s und A m o r p h o s p o r a n g i u m auch in ihrem Aminosäurebestand gut übereinstimmen (YAMAGUCHI, 1965; SZANISZLO u. GOODER, 1967).

Über das Schicksal von A. g l o b i s p o r u s müssen erneute Untersuchungen entscheiden. Vor allem müßte

überprüft werden, ob sich nicht unter anderen Bedingungen doch noch eine Begeißelung feststellen läßt.

2.5. Spirillospora COUCH (1963)

Die Gattung bildet Luftmycel mit meist kugeligen Sporangien und ähnelt in dieser Hinsicht der Gattung *Streptosporangium*. Die stäbchenförmigen bis spiraligen Sporangiosporen sind in Spiralen angeordnet. Ihre Begeißelung ist nach COUCH (1963) lophotrich. HIGGINS u. Mitarb. (1967) stellten bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von zwei Stämmen ein suppolares Geißelbüschel fest.

Die einzige bisher beschriebene Art und Typus-Art ist *S. albidula* (COUCH, 1963) mit weißem Luftmycel und weißem bis blaß gelblichem Substratmycel.

2.6. Pilimelia KANE (1966)

Im Jahre 1954 berichtete KARLING über "an unusual keratinophilic microorganism", den er bereits 1938 zum ersten Mal auf Keratinsubstanzen beobachten konnte. Wegen der kugeligen bis länglichen Sporangien mit nebeneinander angeordneten Reihen von schwimmfähigen stäbchenförmigen Sporen hielt KARLING eine Verwandtschaft mit den Actinoplanaceen für sehr wahrscheinlich. ROTHWELL (1957) versuchte die Reinzüchtung, aber "all attempts to isolate and grow it in pure culture on synthetic media were unsuccessful". Er beobachtete bei seinen Untersuchungen einen zweiten keratinophilen Actinomyceten mit zylindrischen Sporangien und langen Trachyphen, den er für eine weitere Art hielt.

Ähnlich geringen Erfolg in Bezug auf die Reinzüchtung hatte GAERTNER (1955). Er kodierte zwei deutlich voneinander unterscheidbare keratinophile Organismen, von denen der

"später aufgefundene Organismus" mit dem von KARLING beobachteten identisch sein dürfte.

Die Isolierung, Reinzüchtung und endgültige Beschreibung als neue Gattung *P i l l i m e l l i a* erfolgte erst 1966 durch KANE. Wenn auch die Sporangien eine gewisse Ähnlichkeit mit *A m p u l l a r i e l l a* aufweisen (vgl. COUCH, 1963, S. 56 f.), so scheinen doch die abweichenden morphologischen und physiologischen Merkmale (vgl. KANE, 1966) bei weitem auszureichen, um die Aufstellung der neuen Gattung zu rechtfertigen.

KANE unterscheidet zwei Arten: *P. t e r e v a s a* mit meist kugelförmigen Sporangien und *P. a n u l a t a* mit zylindrischen Sporangien und einer ringförmigen Struktur auf der Traghyphie dicht unter dem Sporangium. Die stäbchenförmigen Sporen beider Arten tragen nach KANE polar eine Geißel. Typus-Art ist *P. t e r e v a s a*, die wahrscheinlich auch dem KARLINGschen Organismus entspricht.

Der andere von GAERTNER (1955) geködrte sogenannte "zuerst aufgefundene Organismus" ist durch eine columellaartige Vorwölbung der Traghyphie in die meist kugeligen Sporangien gekennzeichnet. Die Sporenanordnung läßt sich hier, anders als bei *P. t e r e v a s a* und *P. a n u l a t a*, nur schwer feststellen. Eine Beschreibung der Art steht noch aus. Da mir die Isolierung und Reinzüchtung des Organismus gelungen ist, soll sie in der vorliegenden Arbeit gegeben werden.

2.7. - 9. D a c t y l o s p o r a n g i u m,
P l a n o m o n o s p o r a,
P l a n o b i s p o r a THIEMANN et al.

Bei diesen Gattungen handelt es sich um Formen mit schmalen Sporangien, die jeweils nur eine längliche Spore oder

eine kurze Sporenreihe enthalten. Die Sporen sind lophotrich oder peritrich begeißelt (THIEMANN, 1970).

Die drei Gattungen mit allen zugehörigen Arten wurden von THIEMANN u. Mitarb. beschrieben. Da die Veröffentlichung der Isolierungsmethode noch aussteht, sind Arten aus diesem Formenkreis von anderen Forschern, soweit bekannt, höchstens zufällig gefunden worden, so z. B. *D a c t y l o s p o r a n g i u m* (vgl. LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 a); *P l a n o m o n o s p o r a p a r o n t o s p o r a* (?), Stamm 1800, von der Arbeitsgruppe COUCH (vgl. THIEMANN, 1970); drei eigene Isolierungen.

2.7. *D a c t y l o s p o r a n g i u m* THIEMANN et al.
(1967 a)

bildet kein Luftmycel. Die fingerförmigen Sporangien mit drei bis vier Sporen entstehen direkt aus dem Substratmycel unmittelbar auf der Agaroberfläche. Bei den normalerweise pyriformen Sporen liegt lophotriche¹⁾, bei großen zylindrischen Sporen peritriche Begeißelung vor (THIEMANN, 1970).

Die Typus-Art ist *D. a u r a n t i a c u m* (THIEMANN et al., 1967 a). Von ihr unterscheidet sich die gleichzeitig beschriebene zweite Art *D. t h a i l a n d e n s i s* im wesentlichen nur physiologisch.

2.8. *P l a n o m o n o s p o r a* THIEMANN et al.
(1967 b)

bildet einsporige Sporangien nur an Luftmycel, das bei dieser Gattung gut entwickelt ist. Die Begeißelung der stäbchenförmigen Sporen ist wahrscheinlich lophotrich.

1) HIGGINS u. Mitarb. (1967) bilden eine solcherart begeißelte Spore von Stamm 9-41 ab. Nach LECHEVALIER u. LECHEVALIER (1970 a) handelt es sich bei 9-41 um einen *D a c t y l o s p o r a n g i u m* - Stamm.

P. parontospora, die Typus-Art, hat Doppelreihen von Sporangien. Bei *P. venezuelensis* (THIEMANN, 1970) sind die Sporangien in Form der Fiedern eines Palmblattes ("palm leaf pattern") angeordnet oder stehen einzeln.

Die Varietät *antibiotica* der Art *P. parontospora* bildet Sporangiomycin (THIEMANN, CORONELLI et al., 1968).

2.9. Bei *Planobispora* THIEMANN et BERETTA (1968)

werden die Sporangien ebenfalls nur an Luftmycel gebildet, und zwar einzeln an den Haupthyphen und in Büscheln an kurzen Seitenhyphen. Zwei Arten sind beschrieben:

P. longispora (THIEMANN u. BERETTA, 1968), Typus-Art, mit farblosem bis hell cremefarbenem Substratmycel und weißem Luftmycel sowie

P. rosea (THIEMANN, 1970) mit rosarotem Substratmycel. Für *P. rosea* wurde peritriche Begeißelung nachgewiesen (THIEMANN, 1970).

2.10. *Kitasatoa* MATSUMAE et HATA (1968)

Einige Übereinstimmungen mit den THIEMANNschen Organismen, insbesondere mit *Dactylosporangium*, weist die Gattung *Kitasatoa* (MATSUMAE et al., 1968) auf. Hier wird ebenfalls eine einzelne Reihe begeißelter Sporen in länglichen Sporangien gebildet. Im Unterschied zu *Dactylosporangium* sind die Sporangien keulenförmig, entstehen sowohl direkt an dem Substratmycel als auch an dem hier gut entwickelten Luftmycel und entlassen Sporen, die polar monotrich begeißelt sind. Außerdem bestehen die lufthyphen z. T. aus langen Konidienketten. Die Gattung produziert Chloramphenicol.

Vier morphologisch ähnliche Stämme wurden isoliert und jeder von ihnen als eine Art beschrieben:

- K. *purpurea* MATSUMAE et HATA, Typus-Art,
 K. *kauaiensis* MATSUMAE, OHTANI et HATA,
 K. *diplospora* MATSUMAE, OHTANI et HATA,
 K. *nagasakiensis* MATSUMAE et HATA.

Es folgen nun noch drei Gattungen, deren Zuordnung zu den Actinoplanaceen zweifelhaft ist. Bei dieser Gruppe findet man nur unbegeißelte Sporen, die meist zu wenigen in einer einzigen Reihe innerhalb eines "Sporangiums" gebildet werden.

2.11. Microelllobosporia CROSS, LECHEVALIER et LECHEVALIER (1963) (Macrospora TSYGANOV et ZHUKOVA, 1963)

TSYGANOV, ZHUKOVA u. TIMOFEEVA beschrieben 1963 die Gattung *Macrospora* mit einer Art, *M. violacea*. Im gleichen Jahr, nur kurze Zeit später, erfolgte die Beschreibung von *Microelllobosporia* (CROSS, LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1963). Die beiden Arten der letztgenannten Gattung, *M. cinerea*, Typus-Art, und *M. flava*, unterscheiden sich nur physiologisch. Eine Reihe von zwei bis fünf Sporen wird in dünnwandigen "Sporangien" (RANCOURT u. LECHEVALIER, 1963) sowohl vom Luftmycel als auch vom Substratmycel gebildet.

Macrospora und *Microelllobosporia* erwiesen sich als so ähnlich, daß sie als eine Gattung aufgefaßt werden müssen (BECKER et al., 1965; ZHUKOVA u. TSYGANOV, 1966). Trotz der Priorität von *Macrospora* ist *Microelllobosporia* der gültige Name, da *Macrospora* Homonym einer Pilzgattung ist (BECKER et al., 1965).

Nach anfänglicher Einordnung von *Microello-*

b o s p o r i a in die Familie der Actinoplanaceen wird die Gattung heute auch von den Autoren (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 b) zu den Streptomycetaceen gestellt, wofür vor allem die Zellwandzusammensetzung (Typ I) und die Empfindlichkeit gegen Streptomyces-Phagen sprechen (PRAUSER et al., 1967, hier auch eine eingehende Diskussion der Sporangienfrage).

2.12. E l y t r o s p o r a n g i u m FALCAO DE MORAIS
et al. (1966)

Typus und zugleich einzige Art der Gattung ist E. b r a s i l i e n s e . Als Kennzeichen werden in der Beschreibung schotenförmige Sporangien mit linear angeordneten, unbegeißelten Sporen genannt. Die Sporangien entstehen im Substratmycel, während das graue bis grünliche Luftmycel streptomycesähnliche, gewundene Sporenketten bildet. THIEMANN u. BERETTA (1968), die den Stamm in Kultur genommen hatten, konnten keine Sporangienbildung mehr beobachten; der Stamm verhielt sich wie ein typischer Streptomycet.

Auf eine nahe Verwandtschaft mit S t r e p t o m y c e s weisen auch die Zellwandsubstanzen (Typ I) hin (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 b).

2.13. M i c r o e c h i n o s p o r a KONEV et al.
(1967)

Kugelige bis längliche Sporangien mit 1 - 3 rundlichen oder ovalen Sporen, die sowohl am Substratmycel als auch am Luftmycel entstehen, kennzeichnen diese Gattung. Die dünne Sporangienwand trägt oft stachelige Anhängsel.

M. g r i s e a mit blaugrauem Luftmycel ist die Typus-Art.

Für M i c r o e c h i n o s p o r a wie übrigens auch

für *Elytropsorangium* und *Microelllobosporia* konnte Empfindlichkeit gegen Streptomyces-Phagen nachgewiesen werden (PRAUSER u. FALTA, 1968; PRAUSER, 1970). PRAUSER (1970) hält *Microelllobosporia* und *Microechinospora* für so nahe verwandt, daß er *Microechinospora* als Synonym von *Microelllobosporia* betrachtet. Die gleiche Ansicht vertritt auch WILLIAMS (1970) auf Grund von Untersuchungen mit dem Raster-Elektronenmikroskop.

2.14. Intrasporangium KALAKUTSKII et al.
(1967)

Für *Intrasporangium calvum*, die einzige Art der Gattung, werden interkalare und terminale Sporangien im Substratmycel angegeben. Bei einer elektronenmikroskopischen Untersuchung der sporangienähnlichen Vesikel konnten jedoch keinerlei Sporen nachgewiesen werden (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1969). Außerdem gehört die Art ebenfalls zum Zellwandtyp I (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, ebenda).

3. Vorschläge und Kriterien zur Gruppierung der Gattungen

Vergleicht man die einzelnen Gattungen der Actinoplanaeen miteinander und richtet dabei ein besonderes Augenmerk auf die letztgenannten, so fällt auf, wie heterogen die Familie zusammengesetzt ist. LECHEVALIER bemerkt dazu: "This is largely a grouping of convenience, bringing together a variety of frequently unrelated actinomycetes" (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1967).

Es mangelt nicht an Versuchen, die hier eingeordneten

Gattungen kritisch zu sichten und sinnvoll zusammenzustellen. Als Beispiel sei hier ein von THIEMANN u. BERETTA (1968) aufgestellter Schlüssel wiedergegeben, der entstand, als außer *K i t a s a t o a* alle in diesem Zusammenhang wichtigen Gattungen bereits beschrieben waren.

- I. Organisms with vegetative (primary) mycelium only, or with both vegetative (primary) and aerial (secondary) mycelia. Spores non-motile, formed in sporangia on either type of mycelium or on both.

Fam. Streptosporangiaceae (KRASILNIKOV, 1964)

- A. Club-shaped sporangia containing single spores, formed on the vegetative mycelium, and usually also single spores on the aerial mycelium. Outer surface of the sporangia spiny.

Gen. Microechinospira (KONIEV et al., 1965)

- B. Club-shaped sporangia containing short row of spores, formed both on the vegetative and on the aerial mycelium.

Gen. Microellobosporia (CROSS et al., 1963)

- C. Sporangia spherical, containing numerous spores, formed on the aerial mycelium.

Gen. Streptosporangium (COUCH, 1955)

- D. Sporangia irregular with numerous spores, formed on the vegetative mycelium.

Gen. Anorphosphorangium (COUCH, 1963)

- II. Organisms with vegetative (primary) mycelium only, or with both vegetative (primary) and aerial (secondary) mycelia. Spores motile, formed in sporangia on either type of mycelium or on both.

Fam. Actinoplanaceae (COUCH, 1955, emend.
KRASILNIKOV, 1964)

- A. Sporangia fusiform, formed on the aerial mycelium, containing single slightly curved rod shaped zoospores.

Gen. Planomonospora (THIEMANN et al., 1967 b)

- B. Sporangia straight, zoospores rod-shaped, formed as longitudinal pairs in sporangia formed on the aerial mycelium.

Gen. Planobispora gen. nov. (THIEMANN and BERETTA)

- C. Sporangia finger shaped, formed on the vegetative mycelium, containing a single row of oval to pyriform zoospores.

Gen. Dactylosporangium (THIEMANN et al., 1967 a)

- D. Sporangia spherical, subspherical to very irregular; zoospores subspherical.

Gen. Actinoplanes (COUCH, 1950)

- E. Sporangia mostly cylindrical, bottle shaped; zoospores rod shaped.

Gen. Ampullariella (COUCH, 1964)

- F. Sporangia typically spherical, spores rod shaped slightly curved.

Gen. Spirillospora (COUCH, 1963)

Dieser Einteilungsversuch basiert auf einem Vorschlag von KRASILNIKOV (1964), in der Familie *Actinoplanaceae* nur Actinomyceten mit beweglichen Sporangiosporen zusammenzufassen und die sporangienbildenden Formen mit Aplanosporen in eine neue Familie, *Streptosporangiaceae*, einzuordnen.

Bei THIEMANN u. BERETTA besteht diese neue Familie aus vier Gattungen; *Elytrosporangium* und *Intrasporangium* sind aus den bereits erörterten Gründen nicht aufgenommen. *Amorphospo-*

r a n g i u m muß, wenn man diese Einteilung beibehält, auf Grund seiner begeißelten Sporen (KANE HANTON, 1968) zu den A c t i n o p l a n a c e a e gestellt werden. M i c r o e l l o b o s p o r i a und M i c r o e c h i n o s p o r a können eventuell als Synonyme gelten (PRAUSER, 1970) und werden heute nicht mehr zu den A c t i n o p l a n a c e a e s. lat. bzw. den S t r e p t o s p o r a n g i a c e a e s. KRASILNIKOV gerechnet (PRAUSER et al., 1967; LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 b).

Bei Formen wie M i c r o e l l o b o s p o r i a erhebt sich zwangsläufig auch die Frage nach der Definition eines Sporangiums. Die großen vielsporigen Behälter von z. B. A c t i n o p l a n e s oder A m p u l l a - r i e l l a als Sporangien aufzufassen, bereitet keine Schwierigkeiten. Das kann man jedoch nicht mit der gleichen Sicherheit von der mit einer dünnen Hülle umgebenen kurzen Sporenkette von M i c r o e l l o b o s p o r i a behaupten. Aber auch bei den eindeutigen Sporangien, z. B. von A c t i n o p l a n e s , liegen grundsätzlich andere Verhältnisse vor als bei den Pilzen und Algen (PRAUSER et al., 1967). Sporangiosporen entstehen bei den Pilzen durch Aufteilung des vorher mehr oder weniger einheitlichen Sporangieninhaltes in einzelne Portionen, die sich mit einer neu entstehenden Wand umgeben.

Bei den elektronenmikroskopisch untersuchten Stämmen der A c t i n o p l a n a c e a e (LECHEVALIER u. HOLBERT, 1965; LECHEVALIER et al., 1966) wurde dagegen folgende Bildungsweise gefunden: An der Spitze einer Hyphe trennt sich die sonst einheitlich aussehende Wand deutlich in zwei Schichten. Die äußere bläht sich sackartig auf und wird zur Sporangienwand, die innere bleibt als eigentliche Wand der nunmehr in die terminale Aussackung hineinragenden Hyphenspitze erhalten. Das Längenwachstum der Hyphe wird innerhalb des dadurch rasch größer werdenden jungen

Sporangiums verstärkt fortgesetzt. An der Basis des Sporangiums grenzt eine Querwand den sporangiophoren vom sporogenen Teil der Hyphe ab. In manchen Fällen verzweigt sich die Hyphe innerhalb des Sporangiums. Auf diese Weise entstehen gattungs- oder artcharakteristische Sporangien mit spiralgigen, geknäuelten, unregelmäßig oder in geraden parallelen Reihen angeordneten sporogenen Hyphen. Durch irisblendenartiges Einwachsen der Hyphenwand werden simultan zahlreiche Querwände gebildet, welche die sporogenen Hyphen in rundliche bis stäbchenförmige Sporen unterteilen.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Streptomyceten (GLAUERT u. HOPWOOD, 1961; RANCOURT u. LECHEVALIER, 1964) haben gezeigt, daß die Konidien bei der Gattung *Streptomyces* offensichtlich auf die grundsätzlich gleiche Weise gebildet werden wie die Sporangiosporen der Actinoplanaceen. Die sporogenen Hyphen haben eine doppelschichtige Außenbegrenzung. Von der inneren, der eigentlichen Wandschicht, geht die Bildung der Querwände aus, die zur Entstehung von Sporenketten führt. Die äußere Schicht beteiligt sich nicht primär an der Konidientstehung, hebt sich aber auch nicht, wie bei den Actinoplanaceen, von der inneren Schicht ab, sondern bleibt fest mit den Sporen verbunden. Sie bildet die charakteristischen Oberflächenstrukturen der Sporen, wie z. B. die Stacheln. Wenn die reifen Sporen abbrechen, bleibt die äußere Schicht als glatte oder skulpturierte Hülle an jeder einzelnen Spore haften.

Es liegt nahe, die Sporangienwand der Actinoplanaceen und die äußere Hülle der *Streptomyces*-Sporen als homologe Bildungen zu betrachten. Die Unterschiede sind hier ähnlich wie zwischen Schote und Gliederschote, um ein Beispiel aus dem Bereich der Blütenpflanzen zu nennen. Gegeneinander abgrenzen lassen sich Sporangien und Konidienketten, wenn man die Sporangien als solche Sporenbehälter definiert, deren Wand nach dem Freiwerden der Sporen zurückbleibt.

Nach dieser Definition liegt bei *Microellobosporia* eindeutig ein Sporangium vor (s. RANCOURT u. LECHEVALIER, 1963). Andererseits kann man die Sporangienhülle der äußeren Schicht einer sporogenen Hyphe von *Streptomyces* gleichsetzen, die ausnahmsweise nicht zusammen mit den einzelnen Sporen abbricht, sondern als Ganzes an den Sporophoren zurückbleibt.

An solchen Grenzfällen zeigt sich, daß man den systematischen Wert der Sporangien, insbesondere der wenigsporigen, nicht zu hoch einschätzen darf. Man wird vor allem bei ähnlich fraglichen Organismen andere Klassifizierungsmethoden zu Hilfe nehmen müssen, wie z. B. die Analyse der Zellwandsubstanzen. Diese ergab für *Microellobosporia* völlige Übereinstimmung mit den *Streptomycetaceae* (BECKER et al., 1965). Daher wurde die Gattung folgerichtig in diese Familie gestellt.

Zellwandanalysen sind auch für fast alle übrigen sporangientbildenden Gattungen durchgeführt worden (BECKER et al., 1965; YAMAGUCHI, 1965; SZANISZLO u. GOODER, 1967; vgl. auch die Zusammenstellung bei LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970b). Danach bilden *Actinoplanes*, *Amorphosporangium*, *Ampullariella*, *Pilimelia* und *Dactylosporangium* eine Gruppe vom Zellwandtyp II mit den Aminosäuren Glycin, meso-DAP (und/oder DD-DAP) oder Hydroxy-DAP (nur in dieser Gruppe und bei *Micromonospora*, PERKINS, 1965), oder beiden, und den Zuckern Xylose und Arabinose ("sugar pattern D"). Die restlichen untersuchten Gattungen *Streptosporangium*, *Spirillospora* und *Planomonospora* lassen sich zu einer zweiten einheitlichen Gruppe vom Wandtyp III (meso-DAP und/oder DD-DAP) mit dem Zucker Madurose (3-O-Methyl-D-Galaktose) ("sugar pattern B", keine Arabinose oder Xylose) zusammenfassen.

Vergleicht man die Gattungen jeder Gruppe untereinander, so fällt auf, daß sie noch andere Gemeinsamkeiten aufweisen. In der *Actinoplanes*-Gruppe befinden sich Organismen, die kein echtes Luftmycel bilden (Ausnahme *Actinoplanes armeniacus*). Sie ähneln in dieser Eigenschaft und in anderen Kulturmerkmalen auffällig der Gattung *Micromonospora* (COUCH, 1949; JONES u. BRADLEY, 1964), die übrigens als einzige auch in ihrer Zellwandzusammensetzung mit der Gruppe übereinstimmt. Die *Streptosporangium*-Gruppe besteht dagegen aus Gattungen, deren Sporangien an wohlentwickeltem Luftmycel entstehen und die nicht mit *Micromonospora* verwandt zu sein scheinen.

Schließt man sich dem Vorschlag PRAUSERs (1970) an, zu den *Actinoplanaceae* s. lat. nur solche Organismen zu stellen, die Sporangien und meso-DAP (und/oder DD-DAP oder auch Hydroxy-DAP) bilden, so gewinnt die Familie wieder an Klarheit und Übersichtlichkeit. Alle zweifelhaften Formen, "all the organisms forming structures which might be called sporangia" (PRAUSER, 1970) haben LL-DAP und fallen daher aus der Familie heraus.

Die verbleibenden Gattungen lassen sich, wie oben erwähnt, nach ihren Wandsubstanzen und Kulturmerkmalen in zwei Gruppen aufteilen. *Planobispora* und *Kitasatoa*, für die meines Wissens noch keine Zellwanddaten veröffentlicht sind, sollten wegen der Sporangienentstehung an Luftmycel vorerst zur *Streptosporangium*-Gruppe gestellt werden. Ich schlage vor, die beiden Gruppen vorläufig als Unterfamilien der *Actinoplanaceae* nebeneinanderzustellen, und zwar als *Actinoplanoidae* und *Streptosporangioidae*. In der einen Unterfamilie wären dann die *Micromonospora*-ähnlichen Formen mit Zellwandtyp II vereinigt, in der anderen die Luftmycel bildenden mit Wandtyp III.

Diese Einteilung weicht nun allerdings stark von der anfangs diskutierten (THIEMANN u. BERETTA, 1968) ab, die auf KRASILNIKOV zurückgeht. Nach dem heutigen Stand der Forschung könnte in der Familie *Streptosporangiaceae* (KRASILNIKOV, 1964) mit Aplanosporen nur die Gattung *Streptosporangium* selbst verbleiben. So wichtig auch das Merkmal Begeißelung für die Taxonomie sein mag, zur sinnvollen Abgrenzung von Familien scheint es allein nicht auszureichen. Bewegliche Stadien kommen innerhalb der *Actinomycetales* ja nicht nur bei den Actinoplanaceen vor. So bildet z. B. *Dermatophilus* Schwärmstadien. Ferner zeigt eine Gruppe *Nocardia*-ähnlicher, aber DAP-freier Actinomyceten Tendenz zur Beweglichkeit (PRAUSER, 1967).

Gegen eine systematische Gliederung im Sinne KRASILNIKOVs spricht auch die Tatsache, daß dadurch so ähnliche Gattungen wie *Streptosporangium* und *Spirillospora* (vgl. COUCH, 1963) weit auseinandergerückt werden. Auch der Gattung *Amorphosporangium* war in dem System von THIEMANN u. BERETTA ein Platz zugewiesen worden, der die deutlichen Übereinstimmungen mit *Actinoplanes* gänzlich unberücksichtigt ließ. Meiner Meinung nach sollte die KRASILNIKOVsche Einteilung der sporangienbildenden Actinomyceten wieder fallengelassen werden.

Stattdessen sei hier unter Einbeziehung der neueren Ergebnisse und der von LECHEVALIER u. LECHEVALIER (1970 b) vorgenommenen Klassifizierung folgender Schlüssel für die Gattungen der *Actinoplanaceae* vorgeschlagen:

1. Sporangien an gut entwickeltem Luftmycel; mit Aplanosporen oder Zoosporen; Zellwand-Typ III (meso-DAP), Zuckertyp B (Madurose) Streptosporangioideae...5
- Sporangien unmittelbar auf der Oberfläche des Substratmycels gebildet, manchmal an herausragenden, aber immer

kurzen Sporangioophoren; kein fertiles, gut entwickeltes Luftmycel, Kolonieoberfläche höchstens mit dünnem, reifartigem, weißem Überzug, häufig hervorgerufen durch viele dicht stehende Sporangien; Sporangiosporen begeißelt; Kolonien oft Micromonospora-ähnlich; Zellwandtyp II (Glycin, meso-DAP und/oder Hydroxy-DAP), Zuckertyp D (Xylose, Arabinose).....Actinoplanoidae.....2

2. Sporangien fingerförmig, mit einer einzelnen Reihe ovaler bis birnförmiger Sporen

Dactylosporangium (THIEMANN et al., 1967 a)

- Sporangien verschiedengestaltig, mit zahlreichen Sporen3

3. Sporangiosporen ± kugelig bis ellipsoid; Sporangien kugelig oder breit keulenförmig bis stark unregelmäßig

Actinoplanes (COUCH, 1950)

(Amorphosporangium COUCH, 1963)

- Sporangiosporen stäbchenförmig, doppelt so lang wie breit oder länger, meist in geraden parallelen Ketten angeordnet4

4. Sporangien zylindrisch (flaschenförmig), glockenförmig, gefingert oder gelappt; Sporen immer in parallelen Ketten, lophotrich begeißelt; mit Pollen und anderen pflanzlichen Substanzen köderbar

Ampullariella (COUCH, 1964)

- Sporangien kugelig, ± keulig oder zylindrisch, Sporangiosporen in parallelen Ketten oder Sporenanordnung undeutlich, dann aber Sporangien mit Columella; auf Keratinsubstanzen

Pilimelia (KANE, 1966)

- 5(1). Sporangien schmal, länglich; mit Zoosporen, die einzeln, zu zweit hintereinander oder zu mehreren in einer Reihe angeordnet sind7

- Sporangien kugelig; zahlreiche Aplanosporen oder Zoosporen in spiraligen Ketten im Sporangium angeordnet...6

6. Aplanosporen, kugelig bis oval bis stäbchenförmig
 Streptosporangium (COUCH, 1955 a)
- Zoosporen, kurze bis lange (leicht gekrümmte) Stäb-
 chen
 Spirillospora (COUCH, 1963)
- 7(5).Sporangien keulenförmig, endständig, mit mehreren
 monotrich begeißelten Sporen
 Kitasatoa (MATSUMAE et al., 1968)
- Sporangien seitenständig 8
8. Sporangien mit einer einzigen stäbchenförmigen Zoo-
 spore
 Planomonospora (THIEMANN et al., 1967 b)
- Sporangien mit zwei stäbchenförmigen Zoosporen
 Planobispora (THIEMANN u. BERETTA, 1968)

C. M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

1. Allgemeines

Seit der Entdeckung der Actinoplanaceen haben verschiedene Forscher sporangienbildende Actinomyceten aus Erd- und Wasserproben angereichert und isoliert. Sie wendeten im allgemeinen solche Methoden an, die in der Mykologie und Bakteriologie durchaus gebräuchlich sind, die aber für die speziellen Verhältnisse bei dieser Organismengruppe entsprechend modifiziert wurden.

Fundamentale Bedeutung kommt hierbei den Arbeiten von COUCH zu. In seiner Veröffentlichung von 1954 finden sich Angaben über die Verfahren, die von ihm bis dahin mit Erfolg benutzt wurden: das Ködern mit Pollenkörnern und Grasblättern, beides Abwandlungen der Isolierungsmethoden für Chytridiales (COUCH, 1939), sowie die Erd-Verdünnungsmethoden nach JENSTEN (1930) mit Dextrose-Casein-Agar und Wasser-Agar (3 %).

In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst prinzipiell die gleichen Methoden verwendet. Durch Abänderung des Anreicherungssubstrates sollte geprüft werden, ob sich auf diese Weise Actinoplanaceen mit speziellen Ansprüchen einfangen lassen. Für die Reinzüchtung der keratinophilen Organismen waren besondere Verfahren und Medien notwendig.

Bei der Pollenködermethode macht man sich zunutze, daß die beweglichen Sporen den Köder schwimmend erreichen können. Nur selten, und dann mehr oder weniger zufällig, führt dieses Verfahren auch bei unbegeißelten Actinoplanaceen zum Erfolg. Für diese Gruppe empfiehlt sich die Anreicherung auf geeigneten festen Nährböden.

2. Anreicherung und Isolierung

2.1. Actinoplanaceen mit Zoosporen

In der Regel diente Erde als Ausgangsmaterial für die Anreicherung. Die Bodenproben wurden in Anteilen von je einer reichlich bemessenen Spatelspitze (etwa 1 g) in sterile Kulturschälchen (4 cm Durchmesser) gefüllt und mit soviel sterilem destilliertem Wasser übergossen, daß die Erde gut bedeckt und die Schälchen etwa zur Hälfte gefüllt waren. Unmittelbar danach wurden nicht untersinkende - denn die Sporangien werden über der Wasseroberfläche bzw. außerhalb des Substrates gebildet - sterile Ködersubstanzen auf die Wasseroberfläche gebracht: Pollenkörner von *Pinus silvestris*, *Liquidambar styraciflua* und *Sparganium emer-sum*, Baumwollfasern (Watte), Trichome von *Cephalocereus senilis*, Flügelstückchen der Honigbiene, Haare von weissen Mäusen und Ratten, Wollfäden, Seidenfäden. Getrocknete und zerkleinerte Stückchen von Basidiomyceten-Fruchtkörpern (*Armillariella mellea*), die sich vollsaugen und zu Boden sinken, ließen sich mit 0,5 bis 1 cm² großen schwimmenden Netzen aus Damenstrumpfgewebe an der Oberfläche halten.

Die Schälchen wurden dunkelgestellt und mindestens zehn bis vierzehn Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach erfolgte die mikroskopische Prüfung auf Actinoplanaceen-Bewuchs. Von den Pollenkörnern konnte nach diesem Zeitraum bereits abisoliert werden, die übrigen Köder wurden nach insgesamt drei bis vier Wochen nochmals kontrolliert.

Zeigten sich Sporangien, so wurden die bewachsenen Köder unter dem Stereomikroskop mit einer dünnen, vorn hakenartig umgebogenen Wolframnadel aufgenommen und auf einen mit Wasseragar beschichteten Objektträger gebracht. Hier ließen sich mit der gleichen Nadel bei etwa 160-facher Stereomikroskop-Vergrößerung einzelne Sporangien abquetschen und durch längeres zickzackförmiges Rollen über den Agar von eventuell anhaftenden Bakterien reinigen.

Im allgemeinen wurden insgesamt drei bis fünf Sporangien gleichen Ursprungs, z. B. von einem Pollenkorn, auf diese Weise gesäubert und auf kleine Kulturschalen mit verschiedenen Nährmedien übertragen, und zwar je ein Sporangium pro Platte. Keimten mehrere dieser vermutlich gleichen Sporangien aus, so wurde nur eine der gewachsenen Kolonien behalten.

Um eine uferlose Anhäufung gleichartiger Stämme zu umgehen, wurde außerdem bereits beim Entnehmen der befallenen Köder eine Auswahl getroffen, indem z. B. aus einer Probe nur dann mehrere Pollenkörner zum Isolieren verwendet wurden, wenn sie sich in der Morphologie ihrer Sporangien deutlich unterscheiden ließen.

Als Nährböden für die Sporangien dienten ausnahmslos komplexe Medien, da auf jeden Fall ein rasches Anwachsen erreicht werden sollte und mit Bakterienverunreinigungen nicht mehr gerechnet zu werden brauchte. Verwendet wurden Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC), halbkonzentrierter CPC (CPC/2), CPC/2 mit Erdzusatz (CPC/2-E), ein rohrzuckerarmer CPC-Agar (Cpc), Haferflocken-Hefe-Agar (HaH), Hefe-Stärke-Agar (EMERSONS Agar, E), halbkonzentrierter E-Agar (E/2), Kartoffel-Glucose-Agar (KG), Cellulose-Agar (Cl), Pilz-Agar (Hal) und Stärke-Agar (St) (Rezepte s. S. 42f.).

Die Sporangien der keratinophilen Organismen wurden außerdem, z. T. ohne Erfolg, auf folgende Nährböden und Lösungen gebracht: Gelatine-Agar, Hornspäne-Agar, Keratin (Merck)-Agar, Magermilch-Agar (Ca) mit und ohne Vitaminzusatz, verdünnten Milch-Agar mit Zusatz von Hornspänen (Ca/20-Ho), Hefe-Stärke-Lösung (E), Hefeextrakt-Lösungen vom p_H 7,0, 7,4 und 7,8; Magermilch-Verdünnungen (Ca/2, Ca/4, Ca/10), "Künstlicher Erdextrakt" (KE) mit Hefeextrakt (KEH) oder mit Hefeextrakt und Wolle (KEH + W), KE halbkonzentriert mit Casamino Acids (KEC/2).

Als Kulturgefäße für die Flüssigmedien dienten kleine

Reagenzgläser (13 x 100). Zur Bereitung von KEH + Wolle wurde zerkleinerte und durch Auskochen gereinigte Wolle etwa 3 cm hoch locker in ein Röhrchen gestopft und KEH-Lösung zugegeben, bis alle Zwischenräume ausgefüllt waren und die Flüssigkeit den oberen Rand der Wollfüllung erreichte.

2.2. Actinoplanaceen mit Aplanosporen

Die hier benutzte Methode basiert auf dem von NONOMURA u. OHARA (1960) für die Isolierung von Microbispora und Streptosporangium angewendeten Verfahren. Mehrere Impfen Erde wurden auf Petrischalen mit folgenden Medien ausgestrichen: "Künstlicher Erdextrakt"-Agar (KE), KE mit Zusatz von Zellosepulver (KHZ); KE mit Zusatz von Hefeextrakt und Erddekot (KEHE); KEHE mit Zusatz von Thiamin (2 mg/Liter). In einigen Fällen wurde auch Pilzagar verwendet. Nach vier- bis sechswöchiger Bebrütung bei Zimmertemperatur wurden die Platten mikroskopiert, die Actinoplanaceen-Kolonien mit einer dünnen Nadel auf agarbeschichtete Objektträger gebracht und wie oben beschrieben weiterbehandelt.

Zur Beimpfung mit einzelnen Sporangien dienten CPC, CPC/2, CPC/2-E, C1, E, E/2, HAH, EG und halbkonzentrierter Hefe-Glucose-Agar (EG/2).

2.3. Thermophile Actinoplanaceen (Anreicherungsversuch)

Die Isolierung thermophiler Vertreter der Actinoplanaceen wurde nach den gleichen Verfahren versucht. Geprüft wurde Stallmist aus den warmen Schichten von Dunghaufen. Als Köder für Formen mit Zoosporen wurden liquidambar-Pollen und Samenhaare von Gossypium hirsutum angeboten.

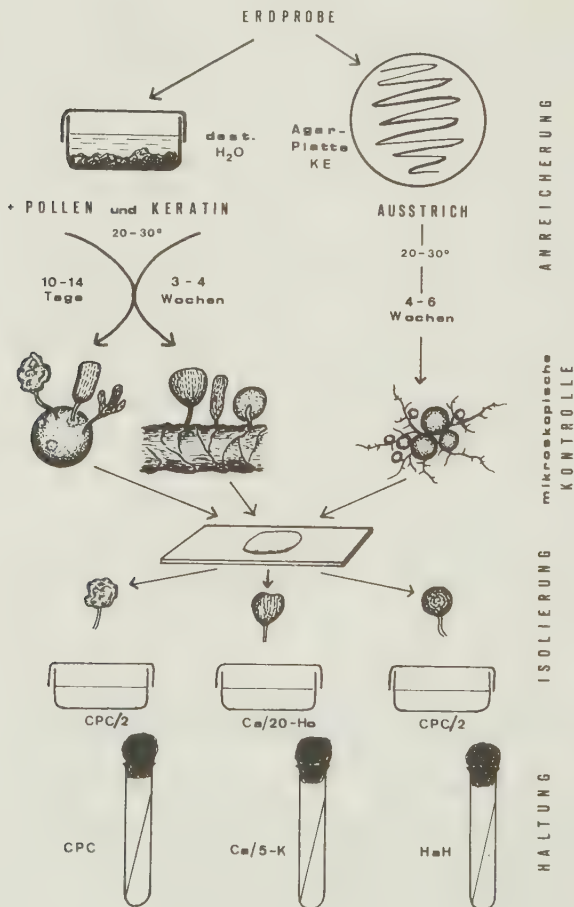
Die Schälchen mit den Mistproben mußten wegen der hohen Verdunstungsrate bei den Versuchstemperaturen von 50 und

60°C in einer feuchten Kammer aufbewahrt werden. Als solche diente eine mit befeuchtetem Zellstoff ausgelegte große Kulturschale mit einer etwas kleineren Schale als Inneneinsatz. Die mikroskopische Kontrolle der Köder erfolgte nach elftägiger Bebrütung bei 50 und 60°C.

Zur Anreicherung von Formen mit Aplanosporen wurden die Mistproben auf Petrischalen mit Cl, KE, KEZ, Mist-Agar und Wasser-Agar ausgestrichen und drei Wochen bei 50 und 60°C in 3-Liter-Einweckdosen als feuchter Kammer (vgl. HENSSEN u. SCHNEPF, 1967) bebrütet.

2.4. Arbeitsschema

Zusammenfassend seien die wichtigsten Schritte der Anreicherung und Isolierung in einem vereinfachten Arbeitsschema wiedergegeben:



3. Untersuchtes Material

Auf Grund der saprophytischen und aeroben Lebensweise der Actinoplanaceen dürften vor allem durchlüftete und an organischen Substanzen reiche Substrate in zumindest gelegentlich feuchtem Milieu für das Vorkommen dieser Organismen geeignet sein. Untersucht wurden daher in erster Linie humusreiche Erdproben aus den oberen Bodenschichten. Sie sollten nach Herkunft und Zusammensetzung möglichst unterschiedlich sein, um ein breites Formenspektrum zu liefern. Als Ausgangssubstrate für die Anreicherung dienten saure, neutrale und alkalische Böden, Kulturböden, Waldböden, Proben von Ödland, von warmen sonnenexponierten Stellen, von klimatisch benachteiligten Lagen usw. In geringerer Zahl wurden auch tierische Exkremente und Gewölle mituntersucht.

Getestet wurden zunächst Proben aus Hessen, insbesondere aus der Umgebung Marburgs. Später kamen - vor allem für die Suche nach *Streptosporangium* - Arten und keratinophilen Formen - zahlreiche Erdproben aus West- und Südeuropa, Afrika, Asien, Australien und Südamerika hinzu.

4. Nährmedien

Zur Haltung und Charakterisierung der isolierten Stämme dienten in erster Linie die von COUCH (1963) benutzten Medien, die in den meisten Fällen ein gutes Wachstum gestatten und darüberhinaus einen Vergleich mit seinen Ergebnissen ermöglichen. Außer diesen wurde eine Reihe anderer gebräuchlicher, teilweise abgeänderter oder auch neu zusammengestellter Nähr- und Testmedien verwendet.

Casein-Glucose-Erd-Agar (JE): Casein-Glucose-Agar nach JENSEN (1930) + Gartenerde (getrocknet, 50 g / Liter).- Cellulose-Agar (Cl) nach HENSSEN u. SCHNEPF, 1967.-

Czapek-Agar und Abwandlungen dieses Mediums: Czapek-Agar (Cz) nach WAKSMAN, 1961, S. 328;- Pepton-Czapek-Agar (PC) nach COUCH, 1963;- Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC): 2 g NaNO_3 des Czapek-Agars ersetzt durch 2 g Pepton und 1 g Casamino Acids (COUCH, mündl.);- Casamino-Pepton-Czapek-Agar, halbkonzentriert (CPC/2) an Nährstoffen und Mineralsalzen, Agar 1,5 %;- Casamino-Pepton-Czapek-Erd-Agar (CPCE): CPC + Gartenerde (getrocknet, 50 g / Liter);- Casamino-Pepton-Czapek-Erd-Agar, halbkonzentriert (CPC/2-E): CPC/2 + Gartenerde (getrocknet, 50 g / Liter);- Casamino-Pepton-Czapek-Heu-Agar, halbkonzentriert (CPC/2-Heu): CPC/2 + Heu (*Poa annua*, zerkleinert, 20 g / Liter);- Casamino-Pepton-Czapek-Agar, rohrzuckerarm (Cpc): 5 g Rohrzucker statt 30 g;- Czapek-Stärke-Agar (CzSt): 15 g lösliche Stärke statt 30 g Rohrzucker.

Erddekot: gleiche Volumenteile Lauberde und Leitungswasser, 2 Std. gekocht, filtriert, Lösung durch Zentrifugieren geklärt, autoklaviert.- Gelatine-Agar: Gelatine 100; Hefeextrakt 2; Casamino Acids 2; Agar 10; Teichwasser 1000; mit Na_2CO_3 neutralisiert, fraktioniert sterilisiert.- Haferflocken-Hefe-Agar (HaH): zerkleinerte Haferflocken 30 g; Leitungswasser 1000 ml; 20 Min. gekocht, auf 1000 ml aufgefüllt; Hefeextrakt 1 g; Agar 15 g.- Haferflocken-Erd-Agar (HaE): Haferflocken-Agar (ohne Hefeextrakt) + Gartenerde (getrocknet, 50 g / Liter).- Hefe-Glucose-Agar, halbkonzentriert (HG/2): Glucose 5; Hefeextrakt 2,5; Agar 15; H_2O 1000.- Hefe-Glucose-Erd-Agar (HGE): Glucose 10; Hefeextrakt 5; Agar 15; Erddekot 200; H_2O 800.- Hefe-Glucose-Mist-Agar (HGM): wie HGE, statt Erddekot die entsprechende Menge Mist-Lösung (s. Mist-Agar).- Hefe-Stärke-Agar (E) nach EMERSON, 1958.- Hefe-Stärke-Agar, halbkonzentriert (E/2) an Nährstoffen und Mineralsalzen, Agar 2 %.- Hornspäne-Agar: Rinderhorn, pulverisiert, 40; Agar 12; KE-Lösung (s. unten) 1000.- Kartoffel-Glucose-Agar (KG) nach WAKSMAN, 1961, S. 331.- Kartoffel-Karotten-Agar (KK) nach

CROSS u. Mitarb., 1963.- "Künstlicher-Erdextrakt"-Agar (KE): "AS solution" nach SKINNER (1956) 1000; Glucose 0,01; Hefeextrakt 0,005; Agar 15.- KEC-Lösung: KE-Lösung + 0,05 % Casamino Acids.- KEC/2: KEC + H_2O , 1 : 1.- KEH-Lösung: KE-Lösung + 0,1 % Hefeextrakt.- KEHE-Agar: KE-Lösung 1000; Erddekot 50; Hefeextrakt 0,1; Agar 15.- KEZ-Agar: KE-Lösung 1000; Zellulosepulver (MERCK, für Chromatographie) 10; Agar 15.- Magermilch-Agar (Ca) nach GORDON u. SMITH, 1955: Trockenmagermilch (Irema-reform) 50; Agar 10; H_2O 1000. Verdünnungsstufen dieses Nährbodens (Ca/2, Ca/3 usw.) ebenfalls mit 1 % Agar.- Ca/5-K: a) 900 ml KEHE-Lösung, 10 g Agar; b) 100 ml H_2O , 10 g Milchpulver; (a) und (b) getrennt autoklaviert, auf ca. 60°C abgekühlt, gemischt und abgefüllt.- Ca/10-K: a) KEHE-Lösung 900, Agar 10; b) H_2O 100, Milchpulver 5.- Ca/20-K: a) KEHE-Lösung 900, Agar 10; b) H_2O 100, Milchpulver 2,5.- Ca/20-Ho: a) KEHE-Lösung 900, Rinderhornmehl 10, Agar 10; b) H_2O 100, Milchpulver 2,5.- Ca/2-NO₃: Ca/2 + 0,1 % KNO_3 .- Maismehl-Agar, halbkonzentriert (CM/2): Difco Corn Meal Agar 8,5; Agar 7,5; H_2O 1000.- Maismehl-Erd-Agar, halbkonzentriert (CM/2-E): CM/2 + Gartenerde (getrocknet, 50 g / Liter).- Mineralsalz-Agar: Medium Nr. 9 C des ISP (SHIRLING u. GOTTLIEB, 1966).- Mist-Agar (Mi) nach HENSSEN u. SCHNEPPF, 1967.- NO₃-Agar: Medium für Nitratreduktion (WAKSMAN, 1961, S. 332) + 1 % Agar.- NO₃H-Agar: Medium für Nitratreduktion (WAKSMAN) + 1,5 % Agar und 0,1 % Hefeextrakt.- Pepton-Agar: Pepton 5; Agar 15; H_2O 1000.- Pepton-Eisen-Hefeextrakt-Agar (PEH): Medium Nr. 6 des ISP (TRESENER u. DANGA, 1958).- Pilz-Agar (Hal): 20 g getrocknete und pulverisierte Fruchtkörpersstückchen von Armillariella mellea; 1000 ml Leitungswasser; 1 Std. gekocht, durch ein Tuch filtriert, auf 1000 ml aufgefüllt; + 0,5 g Hefeextrakt und 15 g Agar.- Tyrosin-Agar (Ty) nach GORDON u. SMITH, 1955.- Stärke-Agar (St) nach HENSSEN u. SCHNEPPF, 1967.

5. Sterilisation

Die Nährmedien wurden, wenn nicht anders vermerkt, 15 Minuten bei 121°C autoklaviert.

Die Entkeimung der Ködersubstanzen mußte schonend durchgeführt werden und erfolgte mit Hilfe von Propylenoxyd (HANSEN u. SNYDER, 1947). Dazu wurden die nicht allzu trockenen Haare, Wattefasern, Pollenkörner etc. und auch die Netzen aus Strumpfgewebe locker oder in flacher Schicht in ein luftdicht verschließbares Glasgefäß, meist ein großes Präparateglas, gefüllt und bei Zimmertemperatur ca. 12 Stunden der Einwirkung von wenigen Tropfen (1 ml/Liter Gefäßinhalt reicht aus) Propylenoxyd ausgesetzt. Als Verdunstungsschale für die Sterilisationsflüssigkeit diente ein kleines Glasgefäß von etwa 2 ml Fassungsvermögen. Vor der Verwendung der sterilisierten Köder wurde der Gefäßverschluß gelockert, damit sich die Propylenoxyd-Dämpfe verflüchtigen konnten.

Die Zuckerlösungen für den Test auf Nutzung verschiedener Kohlenstoff-Quellen wurden sterilfiltriert, ebenso die Vitaminlösungen. Zur Sterilisation von meso-Inosit und Cellulose wurde anstelle des sonst üblichen Äthylenoxyds (vgl. SHIRLING u. GOTTLIEB, 1966) Propylenoxyd in entsprechender Weise verwendet: Substanz-Einwaage in sterile Erlenmeyer-Kolben, Zusatz einer abgemessenen Menge gekühlten sterilen Wassers (soviel, daß die Substanz gut mit Wasser bedeckt war), Zugabe von Propylenoxyd im Anteil von etwa 1 Vol.% der vorhandenen Flüssigkeitsmenge, Verschluß mit einem Wattestopfen, Stehenlassen der mehrmals gut durchgeschüttelten Kolben ca. 12 Stunden lang bei etwa 5°C, Abdampfen des Propylenoxyds im Wasserbad bei etwa 50°C (lockerer Watteverschluß).

6. Kennzeichnung, Haltung und Aufbewahrung der Stämme

Die isolierten Stämme wurden mit fortlaufenden Nummern versehen, und zwar in der Reihenfolge, in der die Einsporangium-Kulturen anwuchsen. Um zwischen den verschiedenen Isolierungsmethoden und Herkünften unterscheiden zu können, wurden den Zahlen große Buchstaben vorangestellt. Die A-, B- und E-Stämme sind Pollen-Isolierungen, die K-Stämme wurden mit Keratin geködert und die S-Stämme, in der Regel *Streptosporangium*-Arten, wuchsen auf den Anreicherungsplatten. Innerhalb der Pollen-Isolierungen bedeuten: A = Marburg und Kreis Marburg, B = Hessen und Rheinhessen; in der Gruppe E sind die übrigen Herkünfte zusammengefaßt. Um Verwechslungen mit z.T. gleichbenannten Stämmen der Sammlung Prof. Henssen auszuschließen, werden die Actinoplanaceen-Stämme in unserer Institutssammlung (MB) als SA-, SB-, SE-, SK- und SS-Stämme geführt, also z. B. als MB-SE 1 (= *Ampullariella regularis*).

Die Haltung der Isolate erfolgte in Glasröhrchen (16 x 160) bei etwa 25°C und Tageslicht auf folgenden Nährböden: A-, B- und E-Stämme auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC) oder Haferflocken-Hefe-Agar (HaH), K-Stämme auf verdünntem Magermilch-Agar (Ca/5-K), S-Stämme auf Haferflocken-Hefe-Agar (HaH).

Die A-, B- und E-Gruppen wurden im Abstand von zwei bis drei Monaten, die K-Gruppe nach 6 bis höchstens 8 Wochen und die S-Gruppe nach etwa drei Monaten auf frische Röhrchen übergeimpft.

Zur Langzeitaufbewahrung und um die ursprünglichen Eigenschaften der Isolate vor kulturbedingten Veränderungen zu bewahren, wurden alle Stämme lyophilisiert¹⁾. Als Schutzkolloid und Medium zur Aufschwemmung des Mycels diente

1) TEXVAC Gefriertrocknungsanlage Type II A,
Textor, Bad Soden (Taunus)

Magermilch. Soweit möglich, wurde für die Gefriertrocknung fertiles Material verwendet¹⁾. Zur mittelfristigen Aufbewahrung wurden gut gewachsene Schrägagarkulturen im Tiefgefrierschrank eingefroren.

7. Morphologische Untersuchungen

Wegen ihrer Bedeutung für die Klassifizierung der Stämme wurde auf Untersuchungen zur Morphologie der Sporangien, der Sporen, des Mycel und der Kolonien sowie auf die Beobachtung des Schwärmvorganges und der Sporenbewegung besonderer Wert gelegt.

Für die lichtmikroskopischen Studien stand das Zeiss-Mikroskop Standard WL zur Verfügung, für die elektronenoptischen Untersuchungen das Siemens Elmiskop IA.

Einzelne Agarkolonien auf Petrischalen (meist 6 cm Durchmesser) wurden durch punktförmiges Beimpfen von Casamino-Pepton-Czapek-Agar (SA-, SB-, SE- und SS-Stämme), von Haferflocken-Hefe-Agar (SS-Stämme) und von Magermilch-Agar (SK-Stämme) erhalten. Die Kolonien wurden nach einer Wachstumszeit von 6 Wochen bis zwei Monaten fotografiert.

Zur Untersuchung der Sporangienmorphologie und des Mycel dienten wachsende Kulturen auf Agarplatten, die im abgekühlten Zustand direkt mikroskopiert wurden, Kleinkolonien auf Pollenkörnern in Schälchen mit Wasser oder in Hängetrophenkulturen sowie ungefärbte und gefärbte Präparate.

Färbungen, die eine Hitze-fixierung voraussetzen, haben sich nicht bewährt, da beim Auftrocknen meistens die Sporangien deformiert werden. Es wurde daher auf das in der Mykologie

1) Nach MILLER u. COUCH (1959) überstehen Sporangien und Mycel den Gefriertrocknungsprozeß gleich gut.

übliche Lactophenol mit Baumwollblau als Farbstoff zurückgegriffen. Dauerpräparate ließen sich durch Umranden der Lactophenol-Präparate mit Zaponlack oder mit Polyvinyl-Lactophenol (Chroma 30950) herstellen.

Der Schwärmvorgang und die Sporenbewegung konnten normalerweise in Präparaten mit destilliertem Wasser gut beobachtet werden. Da bis zum Ausschwärmen der Sporen einige Zeit vergeht, wurden die Präparate entweder in der Zwischenzeit in einer feuchten Kammer aufbewahrt oder am Deckglasrand mit Wachs abgedichtet. In solchen wachsumrandeten Präparaten ließ sich auch das Auskeimen der Sporen verfolgen.

Die Untersuchung der Sporenmorphologie geschah im wesentlichen mit Hilfe des Elektronenmikroskops. Präparate von den Aplanosporen der *Streptosporangium*-Stämme wurden auf folgende Weise hergestellt: Eine kleine Menge fertilen Luftmycels wurde mit einer dünnen Nadel abgenommen, in einen Wassertropfen getaucht und mehrfach umgerührt. Dadurch entstand eine leicht getrübbte Sporensuspension, die gewöhnlich noch verdünnt werden mußte. Mit einer dünn ausgezogenen Pipette wurde dann ein Tröpfchen der Sporenaufschwemmung auf ein kohlebefilmtes Kupfernetz gebracht und an der Luft bei Zimmertemperatur aufgetrocknet. Durch anschließendes fünf- bis zehnminütiges Wässern der Netze mit destilliertem Wasser, d. h. Schwimmenlassen auf der Wasseroberfläche mit der Filmseite nach unten, konnten die Verunreinigungen soweit entfernt werden, daß gut verwendbare Präparate entstanden.

Die Herstellung geeigneter Präparate von Zoosporen erwies sich in vielen Fällen als sehr viel schwieriger. Bei manchen Stämmen schwärmten die Sporen bereits im hängenden Tropfen in destilliertem Wasser, bei anderen ließen sich schwärmende Sporen in ausreichender Zahl nur durch Auflegen eines Deckglases auf die Sporangien erhalten (vgl. WILLOUGHBY, 1966; HIGGINS et al., 1967). Manchmal mußten

anstelle von Wasser auch andere Schwärmmmedien verwendet werden. Im allgemeinen verlief die Präparation wie folgt: Von einer fertilen Kolonie wurden mit der Impfnadel zahlreiche Sporangien abgenommen, auf einen Objektträger mit destilliertem Wasser gebracht, mit einem Deckglas abgedeckt und bis zum Schwärmen der Sporen in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Sobald sich bei mikroskopischer Kontrolle viele schwimmende Sporen im Präparat zeigten, wurde ein Tropfen mit Zoosporen auf ein Kupfernetz pipettiert und aufgetrocknet. In manchen Fällen war es günstig, die Sporen sofort nach dem Aufpipettieren durch etwa 15 Sekunden langes Räuchern über OsO_4 rasch abzutöten, um ein Abwerfen der Geißeln zu verhindern. Die gewässerten und getrockneten Präparate wurden mit einer Gold-Palladium-Legierung im Winkel von 30° schrägbedampft.

Für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden "Scientia" Negativblätter ($4,5 \times 4$ cm) von Agfa-Gevaert verwendet, für die lichtmikroskopischen Fotos der Agfa Kleinfilm Agepe ff. Die makroskopischen Aufnahmen (Kolonietbilder) entstanden mit einer Exakta-Varex II A (Objektiv Tessar) auf Adox KB 14 und Kodacolor-X (20 Din).

8. Physiologische Untersuchungen

Getestet wurden nach den allgemein üblichen Verfahren die für den Vergleich und die Charakterisierung wichtigen Eigenschaften, wie das Wachstum auf verschiedenen komplexen und synthetischen Medien und bei unterschiedlichen Temperaturen, die Fähigkeit zur Bildung von Pigmenten im Substrat, insbesondere von melanoiden Farbstoffen, die Gelatineverflüssigung, die Milchpeptonisierung, die Tyrosinhydrolyse, die Nitritbildung aus Nitrat, die Nutzung verschiedener C-Quellen und die Kochsalzverträglichkeit.

Als Kulturgefäße dienten Glasröhrchen (16×160 mm) und Kulturschalen von 6, 8 und 10 cm Durchmesser.

Einzelheiten zu den physiologischen Untersuchungen finden sich in den betreffenden Kapiteln.

9. Vergleichskulturen

Für die morphologischen und physiologischen Untersuchungen standen von den meisten der im Rahmen dieser Arbeit wichtigen Arten Vergleichskulturen zur Verfügung, und zwar - soweit möglich - die Typus-Stämme (T). Aus der nachfolgenden Aufstellung sind die Arten und ihre Herkunft¹⁾ zu ersehen.

Actinoplanes armeniacus	ATCC 15676 (T)
Actinoplanes missouriensis	CBS 188.64 (T)
Actinoplanes philippinensis	ATCC 12427 (T)
Actinoplanes utahensis	COUCH 260 (T)
Amorphosporangium auranticolor	KCC A-0038 (T)
Ampullariella campanulata	CBS 190.64 (T)
Ampullariella digitata	COUCH 33 (T)
Ampullariella lobata	ATCC 15350 (T)
Ampullariella regularis	CBS 193.64
Pilimelia anulata	KCC A-0090 KANE
Pilimelia terevasa	KCC A-0091 KANE
Spirillospora albida	KCC A-0041 (T)
Streptosporangium album	KCC A-0025 NONOMURA, S-16
Streptosporangium indianesis	KCC A-0053
Streptosporangium roseum	COUCH 27
Streptosporangium viridialbum	KCC A-0027 NONOMURA, S-20
Streptosporangium vulgare	KCC A-0028 NONOMURA, S-1

1) ATCC = American Type Culture Collection, Rockville, Maryland
CBS = Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Niederlande
KCC = Kaken Chemical Co., Tokio, Japan

D. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

1. Anreicherung und Isolierung

Im allgemeinen lassen sich Mikroorganismen in ihrem natürlichen Substrat durch direkte Beobachtung nur schwer nachweisen, wenn sie sich nicht, wie in wenigen günstigen Fällen, durch Massenentwicklung oder durch Anhäufung charakteristischer Stoffwechselprodukte zu erkennen geben. Für die Mehrzahl sind daher Aussagen über das Vorkommen an bestimmten Standorten nur nach vorheriger Anreicherung möglich. Das gilt auch für die Actinoplanaceen.

Da jede Anreicherungs-methode aus der Vielzahl z. T. hoch-spezialisierter Formen nur eine begrenzte Auswahl trifft und somit nur einer bestimmten, meist ernährungsphysiologisch einheitlichen Organismengruppe Entwicklungsvorteile verschafft, müssen Befunde über Verbreitung und Häufigkeit immer in bezug auf das angewendete Nachweisverfahren gesehen werden. Schon eine geringfügige Abänderung der Methode kann zu ganz anderen Ergebnissen führen.

1.1. Die Häufigkeit sporangienbildender Actinomyceten in den untersuchten Proben

1.1.1. Überblick

Vergleichbare Zahlen über die Häufigkeit von Actinoplanaceen teilen GAERTNER (1955) und COUCH (1963) mit. GAERTNER fand in 287 afrikanischen Proben pollenbefallende Actinoplanaceen 36 mal (13 %), in 80 nordeuropäischen Böden einmal und in 26 mitteleuropäischen Erdproben gar nicht. Andererseits stellte er "pollenbefallende Actinoplanes in erheblicher Zahl" in Marschböden aus dem Emslandgebiet fest. COUCH berichtet, daß etwa 66 % der untersuchten Erdproben Actinomyceten enthielten.

Die eigenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 1: Die Häufigkeit sporangienbildender Actinomyceten in den untersuchten Proben

Anreicherungsverfahren	Anzahl der untersuchten Proben	Proben mit Actinoplanaceen	
		absolut	in %
Pollen	370	207	56
Ausstrich	450	156	35
Keratin	427	96	22
Pollen + Ausstrich + Keratin	353	283	80

Über die Hälfte der Proben enthielt mit Pollen köderbare Actinoplanaceen. In ungefähr einem Drittel der Proben ließen sich mit Hilfe von Ausstrich-Platten sporangientragende Kolonien nachweisen. Keratinophile Formen kamen nur in gut einem Fünftel der Proben vor.

Die angewendeten Anreicherungsverfahren zeigten - von wenigen Ausnahmen abgesehen - keine Überschneidungen, d. h. jedes Verfahren brachte nur solche Formen, die sich nicht auch nach einer der beiden anderen Methoden ködern ließen. Häufig führten bei derselben Probe alle Anreicherungsverfahren zum Erfolg, in vielen Fällen aber auch nur eines. 353 Proben wurden vollständig, d. h. nach jedem der drei genannten Verfahren getestet. Dabei zeigte sich, daß in vier Fünftel der Proben sporangienbildende Actinomyceten vorkamen. Dieser Wert lag bedeutend höher als beim Ködern mit Pollen allein und übertraf die von COUCH angegebenen Zahlen um 14 %.

Frei von Actinoplanaceen waren zumeist solche Proben, die nur wenig organisches Material enthielten und auch kaum andere Actinomyceten aufwiesen, außerdem die meisten tierischen Exkremente und die sauren Nadelwaldböden. In den genannten Fällen mußte eigentlich von vornherein mit dem Fehlen von Actinoplanaceen gerechnet werden, vor allem bei den fast nur aus mineralischem Material bestehenden Proben.

In solchen Böden lassen sich oft noch einige Streptomyces, aber keine Actinoplanaceen finden. Der Grund hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß die Sporenverbreitung durch den Wind bei den Actinoplanaceen wahrscheinlich eine geringere Rolle spielt als bei den Streptomyces, da Streptomyces-Sporen zahlreicher und leichter als Actinoplanaceen-Sporangien sind. Dafür spricht auch, daß Plattenverunreinigungen durch Keime aus der Luft nach meinen Erfahrungen nie aus Actinoplanaceen bestehen, recht oft aber aus Streptomyces. Verzichtet man bei der Suche nach Actinoplanaceen auf ausgesprochen mineralisches Material und geht dagegen von mehr oder weniger humusreichen Böden aus, so kann man fast in jeder Probe Vertreter der Familie erwarten.

1.1.2. Actinoplanaceen mit Zoosporen

1.1.2.1. Anreicherung mit Pollen

Auch wenn man in den Tabellenwerten über die Häufigkeit nur grobe Größenordnungsangaben sieht, bleibt ein auffälliger Unterschied zu den von GAERTNER (1955) genannten Zahlen. WILLOUGHBY (1969 a), der englische Böden auf Actinoplanaceen untersuchte, berichtet über nur mäßigen Erfolg beim Ködern mit Pollenkörnern.

Beide Autoren benutzten Pinuspollen, während die Mehrzahl der eigenen Stämme mit Liquidambar-Pollen geködert wurde. Allerdings stammt auch ein großer Teil meiner Isolate von Pinuspollen, der in knapp zwei Drittel der Proben entweder zusammen mit Liquidambar- bzw. Sparganium-Pollen oder auch allein als Köder angeboten wurde. In den etwa 80 Ansätzen, die sowohl mit Liquidambar- als auch mit Pinus-Pollen beschickt waren, konnte keine Bevorzugung des einen oder anderen Pollens durch die Actinoplanaceen festgestellt werden. Auffällig war aber, daß sich im Durchlicht die Sporangien, besonders wenn sie klein waren, auf Liquidambar-Pollen sehr viel rascher und leichter ausmachen ließen als auf den größeren Pollenkörnern von Pinus mit den etwas störenden dunklen Luftkammern.

Sparganium-Pollen, der in über 100 Ansätzen gemeinsam mit Pinus-Pollen als Köder diente, wurde ebenfalls gut angenommen. Die Zahl der Sporangien auf den einzelnen Pollenkörnern war allerdings meist geringer als auf den erheblich größeren von Pinus.

Auch Pappel-Pollen ist für Actinoplanaceen geeignet. KUZNETSOV (1969) konnte nachweisen, daß Pollenkörner von Populus deltoides und Pinus pinaster ohne wesentliche Unterschiede Wachstum und Sporangienbildung von Vertretern mehrerer Gattungen der Familie ermöglichten. Die Ergebnisse waren sogar bei Populus-Pollen ein wenig besser.

1.1.2.2. Anreicherung mit Pilzpulver

Das Ködern mit Pilzpulver auf schwimmenden Netzen brachte Resultate, die zunächst sehr positiv aussahen. 40 Erdproben wurden auf diese Weise geprüft. Bei 12 dieser Proben ergab die mikroskopische Kontrolle nach elf- bis achtzehntägiger Bebrütungszeit, daß die Pilzstückchen von Actinomycesmycel mit Sporangien bewachsen waren.

Die Beobachtung im Durchlicht ließ sich hier, anders als bei den Pollenkörnern, nur schwer durchführen, wenn die Sporangien nicht zufällig über den Rand der Pilzteilchen hinausragten. Deswegen mußten die Köder im Auflicht unter dem Stereomikroskop bei 160facher Vergrößerung kontrolliert werden. Die Sporangien gaben sich als winzige, weiß leuchtende, mehr oder weniger kugelige Gebilde zu erkennen (vgl. COUCH, 1954).

Bewachsene Stückchen wurden mit einer Nadel herausgenommen, eventuell weiter zerkleinert und dann nach Möglichkeit doch noch bei stärkerer Vergrößerung im Durchlicht betrachtet, um vor der Isolierung sicher zu sein, daß es sich tatsächlich um Actinoplanaceen-Sporangien handelte.

Leider brachte das anschließende Isolieren nicht ganz den gewünschten Erfolg. Obwohl neben anderen Nährböden auch jeweils zwei Pilzagar-Platten mit Sporangien aus jeder der zwölf positiven Proben beimpft wurden, konnten nur sechs Stämme isoliert werden.

Ein wesentlicher Grund für die Verwendung von Pilzstückchen als Köder lag in der Annahme, auf diese Weise vielleicht chitinzersetzende und eventuell unbekannte Actinoplanaceen finden zu können. Die isolierten Organismen stimmten aber in ihren Eigenschaften so sehr mit den Pollenisolaten überein, daß sie sich gut in diese Gruppe einreihen ließen. Es sind ein Stamm der Art *Ampulla rieilla digitata* und fünf *Actinoplanes* - Stämme.

Dieselben 40 Proben wurden auch mit Pollen angesetzt, allerdings nicht zeitlich parallel, sondern bereits vorher. Das Ergebnis war fast doppelt so gut. Mit Pollen konnten in 23 von 40 Böden Actinoplanaceen nachgewiesen werden, mit Pilzstückchen dagegen nur in 12 Proben. Aufgrund dieses großen Unterschiedes zuungunsten des Pilzpulvers wurden keine weiteren Proben mehr mit Fruchtkörperstückchen als Köder angesetzt.

1.1.2.3. Anreicherungsversuche mit Insektenflügeln, Cellulosefasern und Seide

Lediglich als Stichproben sind die folgenden Anreicherungsversuche zu werten, bei denen Insektenflügel, Cellulosefasern und Seide als Köder verwendet wurden. Chitin, Cellulose und seidenähnliche Stoffe sind als tierische oder pflanzliche Produkte in der Natur weit verbreitet und liegen in den meisten Böden, wenn auch oft nur in geringer Konzentration, für den Abbau durch Mikroorganismen als dauernd verfügbare Substrate vor.

Aus entsprechenden Untersuchungen ist bekannt, daß viele Actinomyceten, insbesondere *Streptomyces* - Arten, mit Chitin als einziger Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu wachsen vermögen (LINGAPPA u. LOCKWOOD, 1961). Auch Actinoplanaceen konnten auf Chitin-Nährböden angereichert werden (WILLOUGHBY et al., 1968; WILLOUGHBY, 1969 b). Folglich sollten sich auch Chitinstückchen an-

stelle von Pollenkörnern als schwimmende Köder verwenden lassen.

Das im obigen Versuch benutzte Pilzpulver besteht zwar zu einem großen Teil aus Chitin, enthält aber auch die gesamten plasmatischen Bestandteile der Fruchtkörperzellen und ist daher ohne selektiven Wert. Chitinreicher und ärmer an andersartigen Beimengungen sind Hymenopteren-Flügel.

Mit solchem Material - zerkleinerten Flügeln der Honigbiene - wurden 11 Proben angesetzt. Die Kontrolle erfolgte nach 14 Tagen und nochmals nach 6 Wochen. Zwei der Proben enthielten Actinoplanaceen, aber jeweils nur an einem Flügelstückchen und dort an einer eng begrenzten Stelle (Trachee und Tracheenanschnitt) in Form von wenig Mycel und etlichen Sporangien. An den bewachsenen Stellen ließ sich keine Veränderung durch eventuellen Abbau erkennen. Diese Tatsache und das lediglich lokale Wachstum deuten darauf hin, daß die Flügelstückchen nicht als Nährstoffquelle, sondern nur als Unterlage zur Befestigung dienten.

Die bewachsenen Flügelstückchen wurden in Schälchen mit verdünntem Erddekot (5 %) und frischen Flügeln übergesetzt. Eine Vermehrung der Organismen und erneuter Befall konnten nicht festgestellt werden.

Als Cellulose-Köder dienten Wattefäden und Trichome von *Cephalocereus senilis*. Der Watte-Versuch verlief ganz ohne Erfolg. Getestet wurden 11 Proben. Nach siebenwöchiger Bebrütung waren die Wattefäden zwar von Mikroorganismen besetzt und z. T. angegriffen, aber noch frei von sporangientragendem Actinomyceten-Mycel.

Die 10 mit Kakteenhaaren beschickten Erdproben zeigten bei der ersten Kontrolle nach 14 Tagen ebenfalls noch keinen Actinoplanaceen-Bewuchs. Bei einer zweiten Durchsicht 6 Wochen nach Versuchsbeginn fanden sich in einer Probe einige Haare mit viel Mycel und Sporangien. Mehrere Sporangien wurden erfolgreich isoliert. Es handelte sich um

einen *Actinoplanes* - Stamm (SB 10). Auch hier bleibt unsicher, ob das Kakteenhaar als Nährstoffquelle eine Rolle spielte. Im späteren Testversuch zeigte der Stamm keinen Celluloseabbau.

Da manche Actinomyceten Skleroproteine verwerten können, erschien es sinnvoll, auch Seide als Köder anzubieten. 52 Böden, die größtenteils pollenbefallende Actinoplanaceen enthielten - wie das übrigens auch bei den mit Insektenflügeln, Wattlefasern und Kakteenhaaren angesetzten Proben der Fall war -, wurden mit sterilisierter käuflicher Rohseide beschickt. Die mikroskopische Kontrolle erfolgte nach 5 - 6 Wochen. Ein Teil der Proben wies stark zersetzte Seidenfäden auf, in vier Proben waren sie z. T. dicht mit kleinen, kugeligen sporangienähnlichen Gebilden besetzt. Mycel ließ sich nicht feststellen.

Der Versuch, diese "Sporangien" in frischen Schälchen mit 10 %igem Erdextrakt auf Seide und Pollen weiter anzureichern, mißlang. Es ist sehr fraglich, ob es sich bei diesen Gebilden, die der genaueren Untersuchung bedurft hätten, um Actinoplanaceen-Sporangien handelte. Die Seidenfäden in den übrigen Proben waren frei von fraglichen oder eindeutigen Sporangien. Damit blieb der Köder-Versuch mit Seide praktisch ohne positives Ergebnis.

1.1.2.4. Anreicherung mit Keratin

Keratin als zweiter Skleroprotein-Köder in Form von Mäusehaaren (GARRTNER, 1955), Rattennaaren und Wolle ergab recht gute Resultate. Wie bereits erwähnt, enthielt mehr als ein Fünftel der Proben keratinophile Actinoplanaceen. Untersucht wurden 427 Proben, in 96 (22 %) davon fanden sich Sporangien.

Die mikroskopische Kontrolle der Köder lohnte sich wegen der vergleichsweise langsamen Entwicklung der Keratin-Actinoplanaceen erst nach drei- bis vierwöchiger Inkubationszeit. Bei Anwesenheit von keratinophilen Formen waren nach diesem Zeitraum die Haare meist dicht besetzt

mit zahlreichen Sporangien, die entweder unmittelbar dem Substrat aufsaßen oder am Ende kürzerer oder längerer Sporangiphoren standen, wenn sich das Haar geringfügig unter der Wasseroberfläche befand.

In einigen Fällen ließ sich nicht oder nur sehr schwer feststellen, ob in den Proben die gesuchten Organismen vorhanden waren. Diese Proben enthielten keratinophile Chytridiomyceten, die auf den Haaren sehr gut wuchsen und das Keratin rasch abbauten. Wenn sie - wie fast immer - in Massen auftraten, ließen sie infolge ihres schnelleren Wachstums und der beinahe vollständigen Zerstörung des Keratins die Actinoplanaceen nicht zur Entwicklung kommen.

Wolle wurde nur bei 20 Proben, und zwar parallel zu Mäusehaaren, als Köder verwendet. Sie zeigte nahezu den gleichen Befall. Die feineren Mäusehaare haben aber den Vorteil, daß sie sich bequemer mikroskopieren lassen.

1.1.3. Actinoplanaceen mit Aplanosporen

NONOMURA u. OHARA untersuchten nach dem im wesentlichen gleichen Prinzip 11 japanische Böden (1960). Sie fanden die Gattung *Streptosporangium*, die man mit dieser Methode fast ausschließlich erhält, in 9 von 11 Böden. Eine ähnliche Häufigkeit ließ sich bei den hier untersuchten Proben nicht feststellen. Von 450 Boden-, Schlamm- und Exkrementproben enthielten nur 156 (35 %) sporangientragende Actinomyceten. Dabei muß man allerdings berücksichtigen, daß die 11 japanischen Böden eventuell besonders vorteilhaft ausgewählt waren. Aus der Reihe der hier geprüften Proben, die ohne Rücksicht auf ihre Qualität lediglich nach dem Sammelzeitpunkt fortlaufend numeriert wurden, lassen sich aufeinanderfolgende Proben herausgreifen (422 - 435, 454 - 464), die ein ebenso günstiges Ergebnis (11 von 14 bzw. 9 von 11 Proben mit *Streptosporangium* - Arten) zeigen.

Alle verwendeten Anreicherungsmedien führten zum Erfolg. Allerdings zeigten sich sehr deutliche Unterschiede, wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist.

Tabelle 2: Ergebnisse der Anreicherung auf Ausstrichplatten bei Verwendung verschiedener Nährböden

Nährböden	Zahl der Ansätze	Ansätze mit Actinoplana- ceen	
		absolute Zahl	in %
KEZ	101	14	14
KE	93	29	31
Hal.	18	6	33
KEHE	73	25	34
KEHE + B ₁	213	86	40

Auf KEZ und Pilzagar (Hal.) wurden z. T. Parallel-Ausstriche zu KE-Agar angesetzt. Die schlechtesten Ergebnisse brachte KEZ-Agar, ein KE-Agar mit Zusatz von Zellulosepulver. Zellulose wurde zugegeben, weil VAN BRUMMELEN u. WENT (1957) *Streptosporangium* - Stämme als Zellulosezer-setzer isoliert hatten. Es zeigte sich aber, daß der Zusatz den Nährstoffgehalt des Mediums zu sehr an hob und einer Reihe von Mikroorganismen ein üppi-ges Wachstum ermöglichte. Ein Teil der Platten verpilzte nach kurzer Inkubationszeit völlig. Dennoch gewachsene Streptosporangien ließen sich infolgedessen nur schwer auffinden. Aus diesem Grund wurde später auf die Beimen-gung von Zellulose verzichtet, zumal Zellulosezer-setzer der gesuchten Organismengruppe auf pflanzlichen Bestand-teilen der ausgestrichenen Proben normalerweise ausreichen-de Lebensbedingungen finden dürften.

Da die von NONOMURA u. OHARA (1960) beschriebenen *Streptosporangium* - Arten Vitamine, insbe-sondere Thiamin, zum Wachstum benötigen, wurde dem Grund-Anreicherungsmedium (KE) Hefeextrakt (0,01 %) und Erdde-

kokt (50 ml/l) zugesetzt (KEHE). Die Ergebnisse waren nicht merklich besser als bei Verwendung von KE. Das kann einerseits darauf zurückgeführt werden, daß der Zusatz von Hefeextrakt vielleicht zu gering war. Wesentlich mehr Hefe hinzuzufügen, hätte aber eine Eutrophierung des Mediums und damit eine Zunahme der unerwünschten Organismen zur Folge gehabt. Andererseits mußte die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß die von den Begleitorganismen produzierten Vitamine für die Streptosporangien bereits ausreichten, und daß folglich eine Aufbesserung des Mediums die Zahl der Streptosporangium-Kolonien nicht mehr zu steigern vermochte.

Für diese Deutung spricht auch das Anreicherungsresultat nach Zusatz von Thiamin (2 mg/l) zum verbesserten Grundmedium (KEHE + B₁). Mit diesem Nährboden konnten in 40 % der Proben Actinoplanaceen gefunden werden. Der Prozentsatz ergiebiger Proben liegt damit zwar etwas höher als bei Verwendung der übrigen Medien, der Zuwachs ist aber nicht so groß, daß man ihn mit Sicherheit auf den Einfluß des Thiamins zurückführen könnte.

Die Ausstrichresultate wurden mehrfach durch Nematoden geringfügig beeinträchtigt. Läßt man die Platten längere Zeit stehen, so kommt es, wenn die Erde Fadenwürmer enthält, zu einer starken Vermehrung der Nematoden und schließlich zur völligen Zerstörung der Mikroorganismen-Kolonien. Daher erwies es sich als notwendig, die erste Kontrolle der Platten nicht wesentlich später als 4 Wochen nach Bebrütungsbeginn vorzunehmen.

1.1.4. Thermophile Actinoplanaceen (Anreicherungsversuch)

Die Actinoplanaceen gelten allgemein als mesophile Gruppe (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1967). Bisher ist lediglich ein Fall von obligater Thermophilie bekanntgeworden. Es handelt sich dabei um einen Streptosporangium-Stamm, der - abgesehen von den höheren Temperaturansprüchen (Optimum 50 - 55°C) - in seinen übrigen

Eigenschaften mit *Streptosporangium album* übereinstimmt (MANACHINI et al., 1965). Thermophile Formen scheinen demnach unter den Actinoplanaceen, deren Temperaturoptimum meist zwischen 20 und 30°C liegt, sehr selten zu sein.

Aus den von mir geprüften Proben ließen sich mit den für die Isolierung mesophiler Stämme bewährten Methoden bei höheren Temperaturen keine Vertreter der Familie anreichern. Der untersuchte Stallmist (s. S. 39) stammte von 6 verschiedenen Dunghaufen aus der Umgebung Marburgs. Die 49 Ausstrich-Platten (25 bei 50°C, 24 bei 60°C) wiesen zwar eine Reihe interessanter anderer Actinomyceten, aber keine Actinoplanaceen auf. Auch auf den Pollenkörnern und Baumwollhaaren fanden sich keine sporangienbildenden Actinomyceten.

NONOMURA u. OHARA (1969 a, b) konnten bei der Bebrütung hitzebehandelter Erprobren unter für thermophile Organismen günstigen Bedingungen (20 Tage bei 50°C) ebenfalls keine Actinoplanaceen finden, während dieselben Proben bei 30°C zahlreiche *Streptosporangium*-Kolonien ergaben.

1.2. Die Eignung verschiedener Nährböden zur Isolierung

1.2.1. Allgemeines

Nicht immer bietet eine gelungene Anreicherung auch schon die Gewähr für eine erfolgreiche Isolierung und Reinzüchtung. Gerade die hier bei den Actinoplanaceen angewendete Isolierungsmethode, das Abimpfen einzelner gereinigter Sporangien, weist in dieser Hinsicht gewisse Nachteile auf.

Ein Sporangium stellt nur einen winzigen Teil des Vegetationskörpers dar. Es enthält im reifen Zustand ruhende Sporen, also Verbreitungseinheiten, die ihr Wachstum und damit auch die Enzymsynthese vorübergehend eingestellt haben. Erfahrungsgemäß wirkt sich beides auf das Anwachsen des Impfgutes ungünstig aus, wenn das angebotene Nährmedium nicht genau auf die Ansprüche der betreffenden Mikro-

organismen abgestimmt ist. Kräftiger beimpfte Kulturen wachsen oft besser als spärlich beimpfte. Abimpfungen aus der exponentiellen Wachstumsphase führen allgemein zu günstigeren Ergebnissen als solche aus der stationären Phase, in der sich die Sporangien befinden.

Andererseits bringt die Isolierung einzelner Sporangien auch erhebliche Vorteile mit sich. Durch das Ausrollen auf sterilem Agar sind die Sporangien beim Impfen in der Regel frei von Verunreinigungen. Dadurch entfallen alle mühsamen Reinzuchtarbeiten. Außerdem kann in Medien von beliebigem Nährstoffgehalt übergeimpft werden, da keine konkurrierenden Begleitorganismen zu befürchten sind.

Die Auswahl dieser Medien ist verständlicherweise für das Isolierungsergebnis nicht ohne Bedeutung. Sie wurde für die hier durchgeführten Isolierungen nach den folgenden Überlegungen getroffen: Zunächst einmal kamen solche Nährböden und Nährlösungen in Betracht, auf denen die bereits vorhandenen Stämme der Actinoplanaceen gut wachsen. Da nicht eine hohe Mycelausbeute, sondern vor allem das Anwachsen erreicht werden sollte, wurden auch Verdünnungen dieser Medien und andere Nährböden mit nur geringen Nährstoffkonzentrationen ausgewählt. Um zu verhindern, daß Vitaminmangel oder das Fehlen anderer Wachstumsfaktoren die Sporangien nicht auskeimen ließen, schien es günstiger, komplexe Medien zu verwenden als synthetische.

Mehr als bei gewöhnlichen Abimpfungen kam es hier darauf an, frisch gegossene Platten mit noch feuchter Agar-Oberfläche zu benutzen, so daß die Sporangien aufquellen und die Sporen durch Aufplatzen der Wand freierwerden konnten. Meistens wurden die Sporangien in eine kleine, mit der Impfnadel in der Mitte der Platte ausgehobene Vertiefung gebracht, in der sich eine winzige Pfütze aus Oberflächenflüssigkeit ansammelte.

Wenn der Isolierungsnährboden günstig gewählt worden war, wuchsen die Sporangien gewöhnlich rasch zu kleinen Kolonien aus. Sie ließen sich meist bereits innerhalb der

ersten beiden Wochen nach dem Beimpungszeitpunkt mit dem bloßen Auge wahrnehmen, häufig schon nach vier bis fünf Tagen. Einige brauchten auch bis zu vier Wochen, die ke-
ratingeködeten Actinoplanaceen z. T. bis zu 6 Wochen. Dabei handelte es sich oft gar nicht einmal um besonders langsamwüchsige Formen. Die Sporangien blieben vielmehr, wie die mikroskopische Kontrolle zeigte, lange Zeit ohne sichtbare Veränderung auf dem Agar liegen und wuchsen dann ähnlich schnell wie die übrigen Sporangien zu Kolonien heran.

Ein Teil der Platten blieb auch nach langer Bebrütungszeit ohne Wachstum. Der Anteil dieser erfolglosen Isolierungen war je nach verwendetem Nährboden und aufgeimpfter Organismengruppe sehr unterschiedlich.

1.2.2. Pollengeködete Actinoplanaceen

Die Ergebnisse der Isolierungsversuche sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle 3: Isolierung und Keimung einzelner Sporangien auf verschiedenen Nährböden bei pollengeködeten Actinoplanaceen (einschließlich der auf Pilzpulver angereicherten Formen)

Nährböden	1-Sporangium- Isolierungen	gekeimte Sporangien	
		absolute Zahl	in %
CPC/2	190	159	84
HaH	139	101	73
CPC/2-E	80	54	68
CPC	291	182	63
KG	49	31	63
E	197	112	57
St	47	26	55
Cl	18	9	50
Cpc	37	17	46
E/2	34	11	32
Hal	21	3	14

Am häufigsten wurde CPC-Agar verwendet, da fast alle mit Pollen geködeten Actinoplanaceen auf diesem Medium gut wachsen. Den besten Anwacherfolg (84 %) brachte allerdings der gleiche Agar in halbkonzentrierter Form (CPC/2). Der Unterschied von ca. 20 % ist recht auffällig. Durch Zusatz von Gartenerde (CPC/2-E) ließ sich das Ergebnis nicht verbessern, sondern fiel sogar schlechter aus. Sehr gut bewährt hat sich Haferflocken-Hefe-Agar (HaH). Nährböden mit nur geringem Nährstoffgehalt (St, Cl, Cpc) ergaben schlechtere, aber immer noch befriedigende Resultate.

1.2.3. Keratin-geködete Actinoplanaceen

Wie schon an den mit nur einer Ausnahme sehr niedrigen Zahlen erfolgreicher Abimpfungen zu erkennen ist (s. Tab. 4), brachte die Isolierung dieser Gruppe zahlreiche Schwierigkeiten mit sich. Nachdem bei einem ersten Versuch auf den für die pollengeködeten Formen verwendeten Nährböden kein einziges Sporangium ausgekeimt war, wurde die Isolierung auf Hornspäne-, Magermilch-, Gelatine- und Keratin-Agar sowie verschiedenen, überwiegend nährstoffarmen Lösungen versucht.

Die besten Ergebnisse lagen zunächst bei 30 % für KEH-Lösung. Anfänglich wurde die Lösung mit Zusatz von Wolle (KEH + W) verwendet. Es stellte sich aber heraus, daß die Wolle das Isolierungsergebnis nicht verbessert. Auf den anfangs benutzten festen Nährmedien keimten nur wenige Sporangien. Lediglich der Hornspäne-Agar ist erwähnenswert, das Ergebnis aber keineswegs befriedigend. Magermilch-Agar erlaubt vor allem in geringeren Konzentrationen beim Beimpfen mit Mycel ein recht gutes Wachstum der Keratin-Actinoplanaceen. Als Isolierungsmedium bewährte er sich aber in der zunächst verwendeten Zusammensetzung ebenso wenig wie die verdünnten Magermilchlösungen.

Tabelle 4: Keratin-geködete Actinoplanaceen. Isolierung und Keimung einzelner Sporangien auf verschiedenen Nährmedien

Nährmedien	1-Sporangium- Isolierungen	gekeimte Sporangien	
		absolut	in %
Ca/20-Ho	193	129	67
KEH (fl.)	47	14	30
KEH + W (fl.)	158	32	20
KEC/2 (fl.)	11	2	18
Hornspäne-A.	45	5	11
Ca/10 (fl.)	14	1	7
Ca	33	1	3
Ca + Vitamine	18	0	-
Ca/2 (fl.)	14	0	-
Ca/4 (fl.)	28	0	-
Ca/20-Ra	106	0	-
Gelatine-A.	24	0	-
Keratin-A.	20	0	-
E (fl.)	19	0	-
Hefeextr. (0,4 %)	33	0	-
p _H 7,0; 7,4; 7,8			

KANE (1966) berichtet über ähnliche Schwierigkeiten bei der Isolierung von Stämmen der beiden keratinophilen Arten *Pilimelia terevasa* und *P. annulata*. Auf Trypton-Glucose-Hefe-Agar (TGY) keimte nur 1 % der Sporangien. In einem Keimtest mit verschiedenen Nährböden ermittelte sie dann eine Anwachsrate von 30 % für Stärke-TGY-, Pepton-Czapek- und Tyrosin-Agar. Einen erheblich höheren und für diese Gruppe sehr günstigen Wert (60 % !) fand sie für YPSS-Agar, der dem Hefe-Stärke-Agar (E) entspricht.

Dieses Nährmedium wurde auch hier bei einem Isolierungsversuch eingesetzt. Auf Grund der besseren Erfahrungen mit flüssigen Medien bei der Isolierung der keratinophilen Formen wurden neben einigen E-Agar-Platten 19 Röhrchen Hefe-Stärke-Lösung (E) mit einzelnen Sporangien beimpft. Der Versuch blieb ohne Erfolg.

Ausgehend von dem guten Anwachsen der in Kultur genommenen Stämme auf stark verdünntem Magermilch-Agar mit Zusatz von Mineralsalzen und Rinderhornmehl (Ca/20-Ho) - selbst beim Beimpfen mit mehr als sechs Wochen altem, aber fertilem Mycel -, wurde schließlich die Isolierung auf diesem Nährboden versucht. Das Ergebnis war weit besser als auf allen anderen Medien. Etwa zwei Drittel (67 %) der Sporangien keimten, unter ihnen auch diejenigen mit Columella.

Offenbar ist es nicht gleichgültig, welche Hornsubstanzen man dem verdünnten Milchagar zusetzt. In einem Parallelversuch wurde ein Nährboden verwendet, der anstelle des Rinderhornmehls zerkleinert Haare, wie sie im elektrischen Trockenrasierer anfallen, enthielt (Ca/20-Ra). Von 106 isolierten *Pilimelia*-Sporangien keimte nicht eines. Ein *Actinoplaneis*-Stamm (SE 209), der in den Anreicherungskulturen auf Haaren wuchs, konnte hingegen mit diesem Medium isoliert werden.

1.2.4. Actinoplanaceen von Ausstrich-Platten

Bei dieser Gruppe fielen die Isolierungsergebnisse ähnlich aus wie bei den pollengeköderten Actinoplanaceen. Auch hier wurden die besten Ergebnisse auf CPC/2, HaH und CPC/2-E erzielt, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle 5: Actinoplanaceen von Ausstrich-Platten. Isolierung und Keimung einzelner Sporangien auf verschiedenen Nährböden

Nährböden	1-Sporangium- Isolierungen	gekeimte Sporangien	
		absolut	in %
CPC/2	54	42	78
HaH	150	110	73
CPC/2-E	49	34	69
Cl	69	38	55
E	182	89	49
CPC	114	48	42
KG	57	24	42
E/2	25	6	24
HG/2	34	0	-

Erstaunlich ist, daß auf halbkonzentriertem Hefe-Glucose-Agar (HG/2) kein Sporangium auskeimte. NONOMURA u. OHARA (1969 b) beobachteten eine Wachstumshemmung durch Glucose bei einigen thermophilen Actinomyceten. So wurde z. B. bei einem Stamm von *Thermoaactinomyces vulgaris* das Wachstum auf Haferflocken-Hefe-Agar (0,2 % Hefeextrakt) durch Zugabe von Glucose (0,5 - 2 %) gänzlich unterbunden, durch Hinzufügen von erheblich mehr Hefeextrakt (1 %) aber wieder ermöglicht. Die Hefeextrakt- und Glucosekonzentrationen des HG/2-Agars liegen in diesem Bereich (0,25 %; 0,5 %), so daß auch hier eine Hemmwirkung der Glucose vorliegen könnte. Andererseits keimten auf Kartoffel-Glucose-Agar (KG, 2 % Glucose) über 40 % der aufgeimpften Sporangien. Hier weitere Überlegungen anzustellen, würde ohne ent-

sprechende Experimente kaum weiterführen. Ebensowenig erscheint es sinnvoll, aus den vorliegenden Zahlen Rückschlüsse auf die Bedeutung einzelner Nährmedienbestandteile für den Erfolg oder Mißerfolg der Isolierungen ziehen zu wollen. Dazu wären besondere Untersuchungen notwendig, die nicht im Rahmen dieser Arbeit lagen.

1.3. Zusammenfassung der Isolierungsergebnisse

Eine summarische Zusammenfassung der Isolierungsergebnisse, getrennt nach den angewendeten Anreicherungsverfahren, bringt die folgende Tabelle.

Tabelle 6: Gesamtzahlen der isolierten und gekeimten Sporangien und Stämme

Anreicherung	1-Sporangium- Isolierungen (Stämme)	gekeimte Sporangien (Stämme)	
		absolut	in %
Pollen u. Pilzpulver	1103 (351)	705 (290)	64 (83)
Ausstrich-Platte	734 (199)	391 (164)	53 (82)
Keratin	763 (108)	184 (72)	24 (67)

Da immer mehrere gleichartige Sporangien, z. B. von derselben Kolonie bzw. demselben Pollenkorn, isoliert wurden, ist die Anzahl der Einzelisolierungen größer als die der entsprechenden Stämme. Diese sind in der Tabelle in Klammern hinter den Sporangienzahlen angegeben. Ihnen kommt für die Beurteilung des Gesamtergebnisses die größere Bedeutung zu.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, daß über vier Fünftel der auf Pollen und Platten angereicherten Stämme in Kultur genommen werden konnten, daß dies aber bei knapp einem Fünftel nicht gelang, manchmal trotz wiederholter Isolierungsversuche auf verschiedenen Medien. Bei manchen dieser schwierigen Stämme konnte nicht noch einmal nachisoliert werden, weil beim ersten Isolierungsversuch alle auffindbaren Sporangien aufgebraucht worden waren.

Niedriger ist die Zahl der erfolgreichen Isolierungen bei den keratinophilen Actinoplanaceen, besonders groß der Unterschied zwischen ausgekeimten Sporangien (24 %) und erhaltenen Stämmen (67 %). Daß es sich hierbei um eine schwierige Gruppe handelt, die von mehreren Forschern (KARLING, 1954; GAERTNER, 1955; ROTHWELL, 1957) nicht reingezüchtet werden konnte, wurde bereits erwähnt. Der eigentliche Grund für die niedrigeren Werte liegt aber darin, daß in den Zahlen alle Isolierungen der ersten völlig erfolglosen Reinzuchtversuche enthalten sind. Hätten von Anfang an positive Erfahrungen mit irgendeinem Nährmedium, wie jetzt z. B. mit Ca/20-Ho-Agar vorgelegen - auf diesem Nährboden wuchsen 41 von 43 isolierten Stämmen (95 %) -, wären die Ergebnisse erheblich günstiger ausgefallen.

2. Charakterisierung und Klassifizierung der Isolate

2.1. Allgemeines

Aus den Beobachtungen bei der mikroskopischen Kontrolle der Anreicherungsmedien und beim Isolieren ergeben sich im allgemeinen höchstens grobe Hinweise darauf, welchen Arten die gefundenen Actinoplanaceen angehören. Selbst Aussagen über die Gattungszugehörigkeit sind vielfach nur von vorläufigem Wert oder manchmal auch gar nicht möglich. Erst wenn die Isolate in Reinkultur vorliegen, bietet sich die Möglichkeit zur genauen und sorgfältigen Gruppierung, Bestimmung und Beschreibung.

Eine Gruppierung der isolierten Stämme läßt sich, wie jedes Ordnen heterogenen Materials, mit Hilfe kennzeichnender und unterscheidender Merkmale durchführen. Diese Merkmale müssen innerhalb einer Gruppe bei jedem einzelnen Stamm regelmäßig und in gleichem Maße zur Ausbildung kommen, wenn sie zur Charakterisierung der Gruppe geeignet sein sollen (KUTZNER, 1956).

LIESKE (1921) hatte bei seinen Untersuchungen die Überzeugung gewonnen, daß es solche konstanten Merkmale bei den Actinomyceten nicht gäbe; es sei "im Gegenteil von fast allen morphologischen und physiologischen Merkmalen eine starke Veränderlichkeit auch bei gleichbleibenden Außenbedingungen mit Sicherheit experimentell nachgewiesen worden" (S. 22).

Andere Forscher (ØRSKOV, 1923; JENSEN, 1930; u. a., siehe hierzu den geschichtlichen Überblick bei WAKSMAN, Vol. I, 1959) vertraten demgegenüber in den folgenden Jahren die Ansicht, daß eine Klassifizierung der Actinomyceten auf Grund morphologischer und physiologischer Merkmale durchaus möglich ist. Eine solche Klassifizierung erhebt nicht den Anspruch, auf phylogenetischer Grundlage zu basieren, sondern "folgt in erster Linie praktischen Gesichtspunkten und dient dem Wiedererkennen der beschriebenen Formen" (SCHLEGEL, 1972, S. 69).

Zur Kennzeichnung der systematischen Einheiten wurde eine im Laufe der Zeit stets wachsende Zahl von häufig auch in der Pilz- und Bakteriendiagnostik üblichen Merkmalen herangezogen (ausführliche Zusammenstellungen z. B. bei WAKSMAN, Vol.II, 1961, S. 61 ff. und bei GOTTLIEB, 1961). Dabei hängt es weitgehend von der persönlichen Ansicht des betreffenden Forschers ab, welches Gewicht er den einzelnen Merkmalen gibt und welche dieser Merkmale er zur Abgrenzung systematischer Kategorien für geeignet hält. Manche messen den morphologischen Charakteristika fast ausschließlichen Wert bei (BALDACCI u. LOCCI, 1970), andere versuchen eine Einteilung in erster Linie nach physiologischen Merkmalen (JONES u. BRADLEY, 1964).

Einen wesentlichen Beitrag zur Vereinheitlichung und Objektivierung der Klassifizierungsprinzipien - wenigstens für die große Gruppe der Streptomyceten - leistete das beispielhaft durchgeführte "International Streptomyces Project" (GOTTLIEB u. SHIRLING, 1967). Aus der Bearbeitung von mehreren hundert Stämmen durch zahlreiche Forscher nach einheitlichen methodischen Vorschriften (SHIRLING u. GOTTLIEB, 1966) ergab sich, daß manche Merkmale, wie die Morphologie der Sporenketten und der Sporenoberfläche, die Farbe des Luftmycels und die Fähigkeit zur Melaninbildung, auf Grund ihrer Konstanz für die Charakterisierung gut geeignet sind, daß sich andererseits aber manche gebräuchlichen Einteilungskriterien nur mit Einschränkung oder überhaupt nicht - so z. B. die Fähigkeit zur Bildung von Nitrit aus Nitrat - verwenden lassen (SHIRLING u. GOTTLIEB, 1970).

Diese Befunde gelten für die Streptomyceten; sie müssen nicht in gleicher Weise auch für andere Actinomycetengruppen zutreffen, wie man ja nicht einmal innerhalb der Gattung *Streptomyces* erwarten darf, "that all characters would be equally useful to define all species" (GOTTLIEB u. SHIRLING, 1970). Inwieweit sie sich auf die z. T. andersartigen Verhältnisse bei den übrigen Strahlenpilzgruppen, z. B. den Actinoplanaceen, übertragen

lassen, bleibt für jedes der verwendeten Merkmale sorgfältig zu prüfen, wobei berücksichtigt werden muß, daß ein Merkmal dann zur Klassifizierung taugt, wenn es "real, stable, easily recognized, and usable" (GOTTLIEB u. SHIRLING, 1970) ist.

2.2. Morphologische Merkmale

Die Actinomyceten zeigen im Gegensatz zu den Eubacteria eine reiche morphologische Differenzierung. Infolgedessen werden zur Charakterisierung der Strahlenpilze in weit größerem Maße als bei den übrigen Bakteriengruppen morphologische Kriterien herangezogen. Die meisten Forscher ziehen morphologische Merkmale den physiologischen und chemischen vor (PRAUSER, 1970), viele haben es sich zum Prinzip gemacht, "to try to use, as much as possible, morphological properties for the separation..." (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1970 a).

Auch die Gattungen der Actinoplanaceen sind in erster Linie durch morphologische Merkmale charakterisiert (COUCH, 1950, 1955 a, 1963; KANE, 1966; THIEMANN et al., 1967 a, 1967 b; u. a., siehe Schlüssel, S. 32 ff.), z. T. auch die Arten. Das gilt insbesondere für die von COUCH beschriebenen Formen. Zur Abgrenzung werden Unterschiede in der Morphologie des Mycel, der Sporangien und der Sporen verwendet.

2.2.1. Mycel

ØRSKOV, der als erster eine Klassifizierung der Actinomyceten nach morphologischen Kriterien vornahm (1923), stützte sich dabei vor allem auf die Morphologie des Mycels (vgl. WAKSMAN, 1967, S. 28). Er unterscheidet zwischen Substratmycel, das innerhalb des Nährmediums wächst, und Luftmycel, das über die Mediumoberfläche hinausragt. Beide Myceltypen sind bei den Actinoplanaceen anzutreffen. Manche Gattungen bilden jedoch in der Regel nur Substratmycel, aber kein Luftmycel (s. S. 32 ff., Schlüssel).

2.2.1.1. Substratmycel

Dem "erect or aerial mycelium" der Actinomyceten stellt WAKSMAN (Vol.I, 1959, S. 71) das Substratmycel als "prostrate" gegenüber. Diese Charakterisierung von Luft- und Substratmycel läßt sich nicht uneingeschränkt auf die Verhältnisse bei den Actinoplanaceen übertragen.

COUCH weist bereits in seinen ersten Veröffentlichungen über diese Gruppe (1949, 1950) darauf hin, daß bei der Gattung *Actinoplanes* zwei verschiedene Hyphentypen im Substrat gebildet werden, nämlich horizontal verlaufende und vertikal ausgerichtete Hyphen. Die vertikalen Hyphen (= Palisadenhyphen) tragen an ihrem Ende die Sporangien. Bei manchen Arten schließen sie auf bestimmten Nährböden an der Kolonieoberfläche zu einer kompakten Palisadenschicht zusammen. Palisadenhyphen wurden auch für Arten der Gattung *Ampullariella* (*A. regularis*, *A. lobata*; COUCH, 1963) und für *Pilimelia anulata* (BLAND, 1968) beschrieben.

BLAND (1968) trennt begrifflich zwischen den sporangienbildenden oder Palisadenhyphen und den Substrat- oder vegetativen Hyphen, rechnet die Palisadenhyphen also nicht zum Substratmycel. Er wendet außerdem diese ursprünglich an Agarkolonien gewonnenen Begriffe (COUCH, 1950) auch auf die Verhältnisse im natürlichen Substrat an; das heißt z. B. bei einem durch *Pilimelia anulata* besiedelten Haar: die vom innen wachsenden Substratmycel abzweigenden und nach außen durchbrechenden sporangienbildenden Hyphen sind Palisadenhyphen.

Noch deutlicher wird bei BLAND u. COUCH (1968) zwischen Substratmycel und Palisadenmycel unterschieden und eine Homologisierung mit dem "primären" und "sekundären Mycel" nach KLIENEGERGER-NOBEL (1947) vorgenommen. KLIENEGERGER-NOBEL versteht unter dem "sekundären Mycel" bei *Streptomyces* das sporenbildende Luftmycel¹⁾.

1) Die begriffliche Gleichsetzung von sekundärem Mycel und Luftmycel ist allgemein üblich (vgl. z. B. WAKSMAN, 1967, S. 27).

Betrachtet man Palisadenmycel und sekundäres Mycel als homolog, so muß man die Palisadenhyphen als teilweise in das Substrat verlagerte Lufthyphen ansehen. Für eine solche Deutung sprechen mehrere Gründe: die vertikale Ausrichtung der Hyphen (COUCH, 1950), der größere Durchmesser (COUCH, 1950, 1954), die nur seltenen oder ganz fehlenden Verzweigungen (COUCH, 1950, 1954; BLAND, 1968), und schließlich die Bildung von Sporangien am Ende der Palisadenhyphen.

Bei einer nicht geringen Zahl der von mir isolierten luftmycelfreien Stämme wird Palisadenmycel in Form vertikal ausgerichteter sporangientragender Hyphen (Abb. 29/4, 39/6) regelmäßig gebildet.

In diesen Hyphen lassen sich bereits lichtmikroskopisch oft Querwände nachweisen, in den dünneren horizontalen Hyphen ist dies meist nur schwer möglich. Septen werden für die meisten Gattungen der Actinoplanaceen angegeben (COUCH, 1950, 1955 a, 1963; KANE, 1966; THIEMANN u. BERETTA, 1968), eine Stütze für die Vermutung, daß wahrscheinlich alle Actinomyceten septiert sind (LECHEVALIER u. LECHEVALIER, 1967).

Bei manchen Stämmen (z. B. SA 14, SB 1, SB 11) kommt es in relativ breiten Hyphen auf einer begrenzten Strecke zu mehrfacher Septenbildung, so daß kurze Ketten großer, inhaltsreicher Zellen entstehen. Sie können sowohl terminal (Abb. 28/7) als auch interkalar (Abb. 28/8) gebildet werden und dürften Substratsporen darstellen, die den von COUCH (1950, 1954, 1963) beschriebenen Mikrosporen, Mikrokonidien und Konidien entsprechen. Substratsporen, die infolge ihrer mehr kugeligen Form eindeutiger als solche zu erkennen sind und bis etwa 3 μ im Durchmesser erreichen, treten bei einer Anzahl der pollengeköderten Stämme (SB 9, SB 41, SB 46 u. a.) auf, und zwar einzeln oder zu mehreren sowohl terminal als auch interkalar.

Den Durchmesser der Hyphen gibt COUCH (1957 in Bergey's Manual) für die Gattung *Actinoplanes* mit 0,2 - 2,6 μ , für *Streptosporangium* mit

0,5 - 1,2 μ an. Innerhalb dieser Grenzen liegen auch die Werte, die ich feststellen konnte. Bei ein und demselben Stamm können auf dem gleichen Nährboden sehr unterschiedlich dicke Hyphen nebeneinander vorkommen. Ein sehr dünnes Substratmycel bilden insbesondere die keratinophilen Stämme (GAERTNER, 1955; BLAND, 1968). KANE (1966) nennt für *Pilimelia* Hyphendurchmesser von 0,7 - 2,2 μ . Diese Angaben dürften sich vor allem auf die Sporangioophoren beziehen. Das Substratmycel dieser Gattung weist nach meinen Messungen neben Hyphen, deren Maße innerhalb des genannten Bereiches liegen, auch solche von nur etwa 0,2 - 0,3 μ Durchmesser auf.

Im Vergleich zu anderen Actinomycetengruppen liegt bei den Actinoplanaceen eine relativ merkmalsreiche Ausgestaltung des Mycels innerhalb des Substrates vor. Für die Klassifizierung haben die genannten morphologischen Merkmale jedoch - mit Ausnahme des Palisadenmycels und der Substratsporen, denen eine gewisse diagnostische Bedeutung zukommt (COUCH, 1963) - nur geringes Gewicht.

Ob sich eventuell das Verzweigungsbild der Substrathyphen zur Charakterisierung von Actinoplanaceen heranziehen läßt, wie das bei der Kennzeichnung thermophiler Actinomyceten möglich ist (HENSSEN, 1957), müßte noch untersucht werden.

2.2.1.2. Luftmycel

Die Tatsache, daß nur für einen Teil der Actinoplanaceengattungen Luftmycelbildung beschrieben ist, verleiht diesem Merkmal besonderes Gewicht. Luftmycel kommt vor bei *Streptosporangium*, *Spirillospora*, *Planomonospora*, *Planobispora* und *Kitasatoa*, und zwar bei jeweils allen beschriebenen Arten dieser Gattungen mit Ausnahme von *Streptosporangium sibiricum* (GAUZE et al., 1969). Bei Anwendung geeigneter Kulturbedingungen ist es im allgemeinen auch ein sehr leicht feststellbares Merkmal.

Actinoplanes, *Ampullariella*, *Dactylosporangium* und *Pilimelia* gelten als Gattungen ohne Luftmycel. Auch hier ist wieder auf eine Ausnahme - *Actinoplanes armeniacus* (KALAKUTSKII u. KUZNETSOV, 1964) - hinzuweisen (s. Abb. 11/5). Die von COUCH (1950) in der *Actinoplanes* - Gattungsdiagnose zunächst in bezug auf das Luftmycel gemachten Einschränkungen bezogen sich offensichtlich auf *Streptosporangium* - Stämme; sie fehlen in der revidierten Gattungsdiagnose (COUCH, 1955 a).

Die Zuordnung neu isolierter und noch unbestimmter Stämme zu einer der beiden Gruppen erscheint leicht. In der Praxis ist dies aber durchaus nicht immer der Fall, vor allem dann nicht, wenn man sich dabei zunächst auf das Merkmal Luftmycel beschränkt und auf eine gewisse Großzügigkeit in der Beurteilung dieses Merkmals verzichtet. Die mir zur Verfügung stehenden Isolate der Gattungen *Actinoplanes* und *Ampullariella* zeigen alle Übergänge von Stämmen ohne Luftmycel bis hin zu solchen mit deutlich entwickeltem Luftmycel. Dabei lassen sich folgende Stufen unterscheiden:

a) Die Sporangien entstehen unmittelbar auf der Kolonieoberfläche, so daß diese auch bei reicher Sporangienbildung höchstens etwas matt erscheint. Es ist also kein erkennbares Luftmycel vorhanden.

b) Insbesondere bei Betrachtung mit der Lupe im Schräglicht, oft auch schon mit bloßem Auge, läßt sich ein dünner reifartiger Belag auf der Kolonieoberfläche erkennen (s. Abb. 15/15, linker Kolonieabschnitt), hervorgerufen durch kurze, aus dem Substrat herausragende Hyphen oder durch Sporangien auf kurzen, freistehenden Sporangioophoren, oft auch durch beides nebeneinander. Hier muß man definitionsgemäß bereits von Luftmycel sprechen.

c) Die Kolonien weisen einen deutlich sichtbaren reifartigen oder mehltauähnlichen Belag auf (s. Abb. 12/11, 14, 19 = SB 14, Abb. 17/2 = SE 2), bestehend aus fertilen oder sterilen Hyphen oder beidem.

d) Lange Lufthyphen bilden ein unverkennbares Luftmycel (z. B. SB 22, insbesondere auf HaH), das kleinere oder größere Flächen der Kolonie bedeckt und oft steril ist.

Beispiele für den zuletzt geschilderten Fall sind jedoch selten und gehören zu den Ausnahmen, während Stämme mit reifartigem Luftmycel häufig vorkommen. Wenn Kolonien reichlich Sporangien bilden, wird das oft makroskopisch an klein- oder großflächigen dünnen "Luftmycel"-Überzügen erkennbar. Sie liegen z. B. auch bei den Kolonien von *Actinoplanes missouriensis* auf Czapek-Agar vor, für die COUCH (1963) die Beschreibung "... with whitish areas made powdery by sporangia" gibt. Solche reifartigen Überzüge lassen sich leicht mit Kümmerformen des Luftmycels verwechseln, wie sie manchmal anzutreffen sind, wenn Stämme mit normalerweise guter Luftmycelbildung - etwa der Gattung *Streptosporangium* - unter ungünstigen Bedingungen kultiviert werden.

Stellt man dagegen gut entwickelte fertile Kolonien der beiden nach ihrer Luftmycelbildung unterschiedenen Gruppen gegenüber, so zeigen sich in der Regel deutliche Unterschiede. Bei den im Schlüssel auf S. 32 ff. unter der Bezeichnung *Actinoplanoidae* zusammengefaßten Gattungen ist das Luftmycel - sofern vorhanden - normalerweise nicht so kräftig ausgebildet, daß es, wie bei den *Streptosporangioideae* (s. S. 32 ff.), die Kolonien in dichter weißer oder farbig getönter Schicht bedeckt. Gewöhnlich schimmert das Substratmycel durch den dünnen reifartigen Belag und bestimmt den farblichen Eindruck. Dadurch kann z. B. eine stark sporangienbildende Kolonie von *Ampullariella digitata* grau aussehen (vgl. COUCH, 1963).

Es liegen also hier zwei bezüglich ihrer Luftmycelbildung durchaus unterscheidbare Gruppen vor. Die *Actinoplanoidae* mit ihrem zuweilen deutlich, aber nicht üppig entwickelten Luftmycel als luftmycelfrei zu bezeichnen, wäre jedoch nicht gerechtfertigt.

Die fertilen Komponenten des Luftmycels, die Sporangien, sind infolge ihrer Vielgestaltigkeit für die Klassifizierung der Actinoplanaceen von ähnlicher Bedeutung wie die sporenbildenden Hyphen bei *Streptomyces*. Sie sollen im folgenden Kapitel besprochen werden.

Als weitere der Verbreitung dienende Strukturen des Luftmycels sind für manche Arten Konidien beschrieben worden (COUCH, 1955 a, 1963; KANE, 1966). Bei einer Anzahl meiner Keratin-Isolate werden solche Konidienstände gebildet (s. Abb. 35/10, 36/11,12,13; s. auch S.190). Eingekrümmte Konidienketten, wie sie bei *Streptomyces* zu finden sind, weist der Stamm KCC A-0053 auf (Abb. 33/5, 7,9,10), den ich als *Streptosporangium indianensis* (GUPTA, 1965) erhalten und als Vergleichsstamm mituntersucht habe (vgl. SCHÄFER, 1969).

Die sterilen Teile des Luftmycels weichen in ihren morphologischen Eigenschaften nicht von dem ab, was auch für andere Actinomyceten bekannt ist. Im allgemeinen sind auch hier die Lufthyphen breiter als die Substrathyphen. Gut entwickeltes Luftmycel ist meist reich verzweigt. In alternden Kulturen von *Streptosporangium*-Stämmen, besonders deutlich bei SS 29, konnte ich oft eine Kontraktion des Hypheninhaltes beobachten (Abb. 31/7, 13; Abb. 32/3). Zwischen den unterschiedlich großen Zusammenballungen des Plasmas befinden sich optisch leere Hyphenabschnitte von unterschiedlicher Länge, wodurch der Eindruck zerfallender Hyphen entsteht¹⁾. Falls diese Plasmazusammenballungen keimfähig sind, was noch untersucht werden müßte, kann man auf sie den Begriff "Zerfalls-sporen" anwenden, wie er von HENSSEN u. SCHNEPF (1967) für Fragmentationssporen (LACHNER-SANDOVAL, 1898, vgl. LIESKE, 1921, S. 73) mit großen Zwischenräumen gebraucht wird.

1) Abb. 5 der Fig. 2 bei NONOMURA u. OHARA (1969 b) zeigt ähnlich aussehendes Luftmycel von *Streptosporangium viridogriseum* var. *kofoense*, das die Autoren als "segmented aerial mycelium" bezeichnen.

Bei den elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Sporen von *Streptosporangium* - Stämmen zeigte sich, daß die Lufthyphen, die in vielen Fällen zusammen mit den Sporen auf die Kupfernetze gebracht wurden, septiert waren. Die Septen folgen oft in nicht weit entfernten Abständen aufeinander (Abb. 31/5; vgl. auch die Angaben für die Sporangioophoren von *Streptosporangium rubrum*, POTEKHINA, 1965). Wahrscheinlich sind Septen bei allen *Streptosporangium* - Arten zu finden. Die Formulierung "sparingly septate" der Gattungsdiagnose (COUCH, 1955 a) dürfte aber nicht in allen Fällen zutreffend sein.

Von den im Rahmen dieser Arbeit isolierten 526 Stämmen bilden 168 ein zumindest auf bestimmten Nährböden gut entwickeltes Luftmycel. Das sind im wesentlichen die Isolate von Erdausstrich-Platten. Aufgegliedert nach den verschiedenen Isolierverfahren ergibt sich folgendes Bild:
Pollenisolate: insgesamt 293¹⁾, davon 7 mit Luftmycel (SB 22, SE 87, 96, 100, 101, 149, 152)

Keratin-Isolate: insgesamt 72, davon 2 mit Luftmycel (SK 30, SK 31, s. S. 199 ff.)

Ausstrich-Isolate: insgesamt 161, davon 159 mit Luftmycel (ohne Luftmycel sind SS 82 und SS 163; beide gehören zur Gattung *Actinoplanes*).

1) In dieser Zahl sind 10 *Actinoplanes* - Stämme und 1 *Ampullariella* - Stamm enthalten, die nicht mit Pollen geködert wurden, aber zu dieser Gruppe gerechnet werden können, da sie gut auf Pollen in Wasser wachsen: 5 mit Pilzpulver geköderte Stämme (SA 28; SB 48, 49, 50, 51, 53), 4 Isolate von Mäusehaaren, für die das Keratin aber vermutlich nur eine Unterlage, aber keine Nährstoffquelle darstellte (SA 17; SE 3, 4, 209), 1 Stamm von Kakteentrichomen (SB 10, s. S. 56 f.).

2.2.2. Sporangien

Gemeinsames Merkmal aller Vertreter der Familie Actinoplanaceae ist die Fähigkeit zur Bildung von Sporangien¹⁾, deren Bedeutung als Familiencharakteristikum in der ursprünglichen, nach den Nomenklaturregeln allerdings nicht möglichen (COUCH, 1955 b) Bezeichnung "Actinosporangiaaceae" (COUCH, 1955 a) besonders hervorgehoben wurde.

Dieses Merkmal liegt innerhalb der Familie in so vielfältiger morphologischer Ausgestaltung vor, daß seine verschiedenen Erscheinungsformen von Anfang an auch zur Einteilung kleinerer systematischer Einheiten - der Gattungen und z. T. auch der Arten - verwendet wurden. COUCH hält Form und Größe der Sporangien auf Pollen für "very useful taxonomically" (1963). Er weist darauf hin, daß bei Verwendung des gleichen Nährbodens die Unterscheidung verschiedener Arten nach der Größe und Form ihrer Sporangien möglich ist (1954).

2.2.2.1. Größe, Form und Anordnung

Die Größe der Sporangien kann nach COUCH (1954) zwischen 5 und 40 μ - gemessen an der jeweils breitesten Stelle - betragen. Diese Werte wurden durch die Arbeiten anderer Autoren nach unten und oben ergänzt. Die größten Sporangien sind für *Streptosporangium viridogriseum* mit 48 μ Durchmesser beschrieben (OKUDA et al., 1966), die kleinsten Abmessungen weisen die ein- bzw. wenigsporigen Sporangien der Gattungen *Planomonospora* und *Kitasatoa* auf. Bei *Planomonospora parontospora* sind die Sporangien 1,5 x 3,5 - 4,5 μ (THIE-MANN et al., 1967 b), bei *Kitasatoa purpurea* nur 1 x 2,5 - 3 μ (MATSUMAE et al., 1968) groß.

1) Zur Definition und Bildungsweise der Sporangien s. S. 28 ff.

Die meisten der von mir untersuchten Isolate haben Sporangien, deren Größe im Bereich von 5 - 20 μ liegt. Bei manchen Stämmen sind die Sporangien Durchmesser auch größer, gehen jedoch nicht über 30 μ hinaus. Die kleinsten Sporangien finden sich - sieht man von den ersten Entwicklungsstadien (s. Abb. 28/12; 31/9,13) der vielsporigen Sporangien ab, die auf den Agarplatten von reifen Sporangien oft nur schwer zu unterscheiden sind, aber natürlich nicht mitgemessen werden sollten - bei den einsporigen Stämmen SE 100 und SE 149 (*Planomonospora venezuelensis*) mit Abmessungen von etwa 0,7-1 x 2,5-4 μ auf Erdagar. Ein wenig größere Sporangien - 1-1,3 x 3-4,5 μ - hat Stamm SE 101 (*Planomonospora parontospora* ; s. Tafel 30).

Im allgemeinen kommen bei ein und demselben Stamm der vielsporigen Arten recht unterschiedlich große Sporangien nebeneinander vor (s. z. B. Abb. 27/1; 29/13). Von taxonomischer Bedeutung sind vor allem die am häufigsten auftretenden Größen sowie die Maximalmaße.

Gelegentlich zeigt sich eine gewisse Abhängigkeit der Sporangiengröße von den Wachstumsbedingungen, insbesondere vom Substrat (vgl. COUCH, 1954). Beim Ködern mit einer Mischung aus Pinus- und Sparganium-Pollen konnte ich feststellen, daß auf dem Blütenstaub von Sparganium (ca. 30 μ Durchmesser) nicht so große Sporangien gebildet wurden wie auf dem wesentlich größeren (ca. 47 x 70 μ) Pollen von Pinus, vermutlich eine Folge des unterschiedlichen Nährstoffangebots. Ebenso hat die Zusammensetzung des Nährbodens bei manchen Stämmen Einfluß auf die Durchschnittsgröße der Sporangien. SE 2 bildet z. B. auf Kartoffel-Karotten-Agar kleinere Sporangien als auf Haferflocken-Hefe-Agar.

Solche Größenunterschiede auf verschiedenen Medien sind jedoch gewöhnlich nicht sehr auffällig. Dennoch lassen sich streng genommen nur auf identischen Substraten gebildete Sporangien miteinander vergleichen. Wenn das nicht möglich ist, sei es dadurch, daß nur unvollständige Li-

teraturangaben zur Verfügung stehen oder die betreffenden Stämme nicht auf vergleichbaren Substraten fruktifizieren, können die Größenmaße nur als Richtwerte dienen. Zur Abgrenzung von Arten sollten sie nur dann verwendet werden, wenn die Größenunterschiede wirklich gravierend sind und gleichzeitig andere sichere Unterscheidungsmerkmale, etwa in der Gestalt der Sporangien vorliegen.

Die Sporangienform kann nämlich unter den üblichen Kulturbedingungen als ein weitgehend konstantes und damit diagnostisch sehr wertvolles Merkmal angesehen werden. Allerdings sind auch hier Fälle bekannt, in denen der Nährboden die Gestalt der Sporangien beeinflusst (COUCH, 1954) oder auf bestimmten Substraten neben den gewöhnlichen auch einige abweichend gestaltete Sporangien vorkommen (COUCH, 1963: z. B. *Actinoplanes utahensis* auf Czapek-Agar).

Bestimmend für die Form sind in erster Linie Anordnung und Zahl der Sporen. Die Sporangienwand faßt zwar die Sporen zu einer kompakten Masse zusammen und beeinflusst wohl auch die Wachstumsrichtung der sporogenen Hyphen, ist aber so dünn (Abb. 8/3) und formbar, daß sie sich der Gestalt des Sporangieninhaltes eng anpaßt¹⁾ (s. insbesondere die Abb. 27/3, 12, 13). Dementsprechend lassen sich die Sporangien der beschriebenen Gattungen nach Zahl und Anordnung der Sporen in folgende Formgruppen einteilen²⁾.

1. Einsporige und wenigsporige Sporangien; klein, von schmal länglicher, fingerförmiger oder keulenförmiger Gestalt; mit einer Spore oder einer Spo-

1) Das zeigen auch die mit dem Raster-Elektronenmikroskop aufgenommenen Fotos (WILLIAMS, 1970), die allerdings entwässerte Sporangien abbilden.

2) Diese Einteilung gibt die Verhältnisse in etwas vereinfachter Weise wieder. In der Praxis trifft man auch auf Sporangienformen, die sich nicht eindeutig bei 2 a, 2 b oder 2 c einordnen lassen.

renreihe (Planomonospora,
Planobispora, Dactylospor-
angium, Kitasatoa)

2. Vielsporige Sporangien

- a) Sporangien kugelig; die Sporen sind in mehr oder weniger spiralförmigen Ketten angeordnet (Streptosporangium, Spirillospora, Actinoplanes).
- b) Sporangien zylindrisch oder ± kegelförmig bis oval; die Sporen stehen in annähernd parallelen und geraden längsverlaufenden Reihen (Ampullariella, Pilimelia, Actinoplanes).
- c) Sporangien unregelmäßig; die Sporenketten im Sporangium sind nicht einheitlich ausgerichtet, oft sind sie geknäuelte (Actinoplanes, "Amorphosporangium").

Die meisten der genannten Sporangientypen kommen auch bei meinen Stämmen vor. Ihre Verteilung auf die einzelnen Isolierungsgruppen ist ebenso wie auch ihr jeweiliger Anteil an der Gesamtzahl der Stämme sehr unterschiedlich. Nur 3 von 526 Stämmen haben einsporige Sporangien. Es sind die Pollenisolate SE 100, SE 101 (s. Tafel 30) und SE 149. Der letztgenannte Stamm wuchs allerdings auch auf der mit derselben Bodenprobe angesetzten Ausstrichplatte. Alle übrigen bilden vielsporige Sporangien.

Wie aus den entsprechenden Abbildungen der Tafeln 27, 28, 29, 35, 38 und 39 hervorgeht, kann die Zahl der Sporen pro Sporangium sehr groß sein. So enthält z. B. ein mittelgroßes Sporangium von Stamm SE 2, wie es die Abb. 39/1 zeigt, etwa 1500 Sporen. Oft liegen die Zahlen, insbesondere bei den Keratinisolaten (s. Tafel 35) beträchtlich höher.

Die Stämme lassen sich den oben unter (2.) aufgeführten Gruppen wie folgt zuordnen.

- a) Kugelige Sporangien weisen alle Ausstrich-Isolate (s. Tafel 31) mit Ausnahme von SS 82 und SS 163 auf; unter den Pollenisolaten sind es die Stämme mit gut entwickeltem Luftmycel (SE 87, 96 und 152) so-

wie ein Teil der Stämme ohne Luftmycel (z. B. SA 20, s. Abb. 27/10); ferner die Keratin-Isolate SK 30 und SK 31 (s. Tafel 38). Bei SK 1 bis SK 8 (Tafel 36) und 17 weiteren SK-Stämmen - den Isolaten mit Columella-Sporangien - kommen neben ovalen und birnförmigen auch viele kugelige Sporangien vor. Hier sind allerdings die Sporen nicht spiralg angeordnet (s. S. 190).

- b) Zylindrische oder kegelstumpfförmige bis ovale Sporangien mit parallelen geraden Sporenketten finden sich bei etwa einem Fünftel der Pollenisolate (s. Taf. 29 und 39) und bei 45 Keratin-Isolaten (Tafel 35).
- c) Unregelmäßig geformt sind die Sporangien bei der überwiegenden Mehrzahl der Pollenisolate (s. Taf. 27 und 28), außerdem bei den unter (a) als Ausnahmen genannten Stämmen SS 82 und SS 163.

Gelegentlich findet man Sporangien, die miteinander verwachsen sind. Abb. 29/6 zeigt ein solches Doppelsporangium von Stamm SE 1 (*Ampullariella regularis*) mit deutlich erkennbaren Abbruchstellen der beiden Sporangioophoren. Die gleiche Beobachtung konnte ich bei SB 2, SE 44 und SE 47 (ebenfalls *Ampullariella regularis*) machen. Auch bei einigen Erdausstrich-Isolaten (*Streptosporangium* - Stämmen) kommen ähnliche Bildungen vor (Abb. 31/11, SS 57 = *Streptosporangium roseum* ; außerdem zu beobachten bei SS 46, 47, 48, 60 und 63). Durch das Zusammenwachsen entstehen aus den kugeligen größere walzenförmige Sporangien. Es bleibt noch offen, in welchem Entwicklungsstadium die Verwachsung erfolgt und ob die Bildung von Doppelsporangien eventuell durch eine weniger feste Wand begünstigt wird.

Unterschiede in der Festigkeit der Sporangienwände sind bei den einzelnen Stämmen durchaus feststellbar. Beim Reinigen durch Ausrollen auf Agar platzen die Sporangien

mancher Isolate leicht (z. B. bei *Streptosporangium roseum*), während sie bei anderen Stämmen (z. B. *Streptosporangium rubrum*) diese Behandlung fast immer ohne Schaden überstehen.

Einige Isolate sind durch eine charakteristische Anordnung ihrer Sporangien gekennzeichnet. Bei Stamm SE 101 stehen zahlreiche einsporige Sporangien in Form von zwei parallelen Reihen dicht nebeneinander auf der Konvexseite leicht gekrümmter Lufthyphen (Abb. 30/1,2). Dadurch ist das Isolat als *Planomonospora parontospora* charakterisiert und von den Stämmen SE 100 und SE 149, deren gleichfalls einsporige Sporangien wie bei *Planomonospora venezuelensis* (THIEMANN, 1970) einzeln oder gefiedert stehen, eindeutig unterschieden.

Die anderen Actinoplanaceen-Gattungen weisen keine so auffälligen Sporangiengruppierungen auf. Unterschiede in der Anordnung der Sporangien sind bei den einzelnen Isolaten aber vorhanden (s. COUCH, 1954). So können bei den Stämmen ohne echtes Luftmycel die Sporangien einzeln (s. z. B. Abb. 28/2,3,4; Abb. 35/3,4,7 u. a.) oder infolge subterminaler Verzweigung der Sporangiphoren in Gruppen (Abb. 27/7) stehen; sie können an der Spitze gerader unverzweigter Palisadenhyphen oder an gewundenen und unter der Agaroberfläche mehr oder weniger horizontal verlaufenden Hyphen (Abb. 28/9,10,12) gebildet werden. Wie aus den Abbildungen 27/5,8,9 hervorgeht, kommen bei ein und demselben Stamm unter gleichen Kulturbedingungen neben verzweigten (Abb. 27/9) auch unverzweigte (Abb. 27/5) Sporangiphoren vor.

Die Kleinkolonien der luftmycelbildenden Erdausstrich-Isolate zeigen häufig auf den Anreicherungsplatten unterschiedliche Erscheinungsformen, deren Ursache in der Anordnung der Sporangien liegt. Auch Reinkulturen weisen solche Unterschiede auf, die aber bei reichlicher Sporan-

gienbildung oft nicht mehr feststellbar sind. Im wesentlichen kommen drei Typen der Sporangienanordnung vor:

- a) Die meisten Sporangien stehen terminal an kurzen und häufig unverzweigten Hyphen. Steril auslaufende Hyphen sind kaum vorhanden (Abb. 31/1; 33/8).
- b) Die Sporangien werden an den Haupt- und Seitenhyphen eines gut entwickelten und verzweigten Luftmycels gebildet (Abb. 31/8,11).
- c) Die Sporangien entstehen an den kurzen basisnahen Seitenästen von Hyphenbüscheln, während die oberen Seitenäste und die Haupthyphen selbst keine Sporangien tragen. Dadurch kommt es zu einer Anhäufung von Sporangien im Zentrum des Büschels, aus dem lange sterile Hyphenenden sparrig herausragen (Abb. 32/4).

Da die Erdausstrich-Isolate (Gattung *Streptosporangium*) infolge weitgehender Übereinstimmung ihrer Sporangien von daher nicht zu unterscheiden sind, schien sich in der unterschiedlichen Anordnung der Sporangien eine Möglichkeit zur Differenzierung der Stämme anzubieten. Es zeigte sich aber, daß bei einer Gruppierung nach diesem Merkmal Isolate mit gleichem Koloniehäbitus und identischen physiologischen Eigenschaften verschiedenen Gruppen zugeordnet werden mußten. Damit dürften also die obengenannten Anordnungstypen der Sporangien für die Kennzeichnung der Arten nicht geeignet sein. Sie scheinen aber bei den einzelnen Arten verschiedenen häufig vorzukommen. So findet man z. B. den Typ (b) oft bei *Streptosporangium roseum*, den Typ (c) hingegen vielfach bei *Streptosporangium rubrum*.

2.2.2.2. Kulturbedingungen für die Sporangienbildung

Für die Durchführbarkeit einer Klassifizierung nach den besprochenen Sporangienmerkmalen ist es wichtig, daß die Isolate auch im reingezüchteten Zustand unter Laboratoriumsbedingungen zur Bildung von Sporangien veranlaßt werden können. Zwar geht bei dem hier angewendeten Iso-

lierungsverfahren jeder Stamm auf ein Sporangium zurück, über dessen Charakteristika man sich zweckmäßigerweise schon beim Isolieren möglichst genaue Notizen macht. Meist sind jedoch in den Anreicherungskulturen die von demselben Mycelkomplex stammenden Sporangien nicht zahlreich genug, um zur Herstellung von Präparaten auszureichen oder ein Abschätzen der Variationsbreite zu ermöglichen. Das gilt vor allem für die Pollenisolate, weniger für die keratinophilen Formen, die auf den befallenen Haarködern gewöhnlich sehr viele dicht stehende Sporangien bilden.

Nur eine verhältnismäßig geringe Zahl von Reinkulturen ist auf den unterschiedlichsten Nährmedien fertil (z. B. SB 6, 14, 36). Die meisten bilden nur auf bestimmten Substraten Sporangien, manche (z. B. SB 5, 11, 16, 17, 19, 20, 21) verlieren beim Weiterzüchten auch diese Fähigkeit (vgl. MILLER u. COUCH, 1959; WILLOUGHBY et al., 1968; KUZNETSOV, 1969).

Mit Ausnahme weniger Stämme (z. B. SS 59) bereiten die Erdausstrich-Isolate in dieser Beziehung die geringsten Schwierigkeiten. Fertiles Luftmycel wird von der überwiegenden Mehrzahl auf Haferflocken-Hefe- und Hefe-Stärke-Agar gebildet. Lediglich bei einigen Stämmen mußte ich zur Gewinnung von Sporangien für die elektronenmikroskopischen Sporenaufnahmen andere Nährböden, insbesondere Mist-Agar verwenden. Weniger geeignet sind die stark peptonhaltigen Medien PEH, Ty und NO_3H sowie der Magermilch-Agar.

Auch bei den meisten Pollenisolaten (*A c t i n o - p l a n e s* , *A m p u l l a r i e l l a*) bleibt auf diesen Nährböden die Sporangienproduktion aus. Mit einer Reihe anderer Medien läßt sich bei dieser Gruppe eine bessere Sporangienbildung erreichen. Die Ergebnisse sind aber auf keinem der von mir verwendeten Nährböden so günstig wie bei den Erdausstrich-Isolaten. In der folgenden Tabelle sind die bei den ersten 80 Pollenisolaten auf verschiedenen Medien erzielten Resultate zusammengestellt.

Tabelle 7: Sporangienbildung auf verschiedenen Nährböden bei 80 Pollen-Isolaten (*A c t i n o p l a n e s* , *A m p u l l a r i e l l a*)

CPCe	48	CPC/2-Heu	40	CPC	29	Ty	10
CPC/2-E	47	E/2	37	Cz	24	NO ₃	9
HaE	43	HaH	33	Cl	23	Ca	9
KK	43	CPC/2	30	HGE	13	KG	6

Die Zahlen wurden an Schrägröhrchen gewonnen. Vielfach weisen solche Kulturen - wohl infolge des sich bald einstellenden Stoff- und Feuchtigkeitsgefälles im Röhrchen - besondere Bereiche der Sporangienbildung auf, die oft in der oberen Hälfte des Röhrchens liegen.

Als Kriterium für die Fertilität diente das Vorhandensein von mehr oder weniger dünnen, aber immer noch bei Lupenvergrößerung (10 x) wahrnehmbaren "Luftmycel"-Belägen. Diese werden in den meisten Fällen durch die über der Agaroberfläche gebildeten Sporangien verursacht. Es kommt allerdings auch vor, daß dieses Luftmycel steril ist. Andererseits gibt es Stämme, die trotz glänzender Kolonieoberfläche viele Sporangien aufweisen (z. B. SB 8 auf CPC). Deshalb können die Tabellenwerte eventuell geringfügig von der tatsächlichen Anzahl der fertilen Kulturen abweichen. Vereinzelt gebildete Sporangien sind in der Tabelle ebenfalls nicht berücksichtigt, da sie nicht als "Luftmycel" in Erscheinung treten. Wertet man auch diese spärliche Sporangienproduktion, so erhöhen sich die angegebenen Zahlen. Sorgfältiges mikroskopisches Absuchen von Parallelkulturen auf Petrischalen mit CPC/2-E-Agar ergab 61 anstelle von 47 mit der Lupe ermittelten fertilen Stämmen. Auch bei großzügiger Beurteilung erweist sich also auf diesem vergleichsweise sehr gut geeigneten Medium noch etwa ein Viertel der Kulturen als steril.

Einen überaus günstigen Einfluß auf die Fertilität hat der Zusatz von Gartenerde (vgl. THIEMANN, PAGANI u. BERETTA, 1968) zum Nährboden. Das mag zum Teil auf die Huminsäuren

zurückzuführen sein, für die eine fördernde Wirkung auf die Sporangienbildung beschrieben wurde (WILLOUGHBY et al., 1968). Die mit Erde angereicherten Medien (CPCE, CPC/2-E, HaE) ermöglichen ein gleich gutes Mycelwachstum wie die entsprechenden erdfreien Nährböden (CPC, CPC/2), übertreffen diese aber erheblich in der Sporangienproduktion.

Durch Verdünnen der Nährstoffkonzentration auf die Hälfte (CPC/2 statt CPC) ließ sich bei den untersuchten Pollenisolaten keine Fertilitätssteigerung erreichen.

Während der Kartoffel-Karotten-Agar (KK) mit zu den für die Fertilität günstigsten Medien gehört, weisen auf Kartoffel-Glucose-Agar (KG) nur wenige Kulturen Sporangien auf. Bemerkenswert häufig zeigen die Kolonien auf diesem Nährboden eine feucht-schleimige Oberfläche.

Viel leichter als auf Agar gelingt die Sporangienbildung normalerweise auf schwimmendem Pflanzenmaterial, dem gewissermaßen natürlichen Substrat vieler Actinoplanaceen. COUCH (1963) hebt das gute Wachstum auf Liquidambar-Pollen in "soil water" hervor. Oft führt schon destilliertes Wasser zu einem ausgezeichneten Ergebnis (s. Abb. 27/3,5,6,9,10,12). Mit Teichwasser (s. Abb. 27/1,7) und 10 %igem Erddekot (s. Abb. 27/4,11) erzielte ich ebenfalls gute Erfolge. Die Sporangien entstehen häufig an langen, verzweigten und sich strahlenförmig vom Pollenkorn ausbreitenden Hyphen (Abb. 27/4) oder sie werden an kurzen Sporangioophoren gebildet, die zuweilen unmittelbar aus den Keimporen der Pollenkörner herauswachsen (Abb. 27/5).

Doch kann auch auf Pollen die Sporangienbildung ausbleiben. Das geschieht vor allem bei solchen Stämmen, die beim fortwährenden Weiterkultivieren auf Agarmedien die Sporangienproduktion eingestellt haben (vgl. KUZNETSOV, 1969). Überhaupt ist sporangienfreies Mycel zum Beimpfen von Pollen nicht so gut geeignet wie Impfmateriel mit Sporangien, deren Sporen die an der Wasseroberfläche schwimmenden Pollenkörner aktiv aufsuchen und befallen können.

Für die Keratin-Isolate stellen Säugetierhaare auf Wasser über Erde (GAERTNER, 1955) ein den natürlichen Verhältnissen nahekommendes Substrat dar. Die meisten Stämme bilden in diesem Medium auf den Haaren zahlreiche Sporangien. Auch hier erweist es sich im allgemeinen wieder als vorteilhaft, wenn das Impfmateriel aus fertilen Kulturen genommen wird. Bei Verwendung einer mit 0,1 % Hefeextrakt angereicherten Mineralsalzlösung (KEH) anstelle des undefinierbar zusammengesetzten Erd-Wasser-Mediums konnte ich nur noch bei etwa der Hälfte der Kulturen Sporangien feststellen. Bessere Sporangienbildung erreichte ich durch Zusatz von 0,05 % Casamino Acids zur Mineralsalzlösung (KEC). In diesem Medium entwickeln die Stämme oft auch außen auf den Haaren ein dichtes Mycel mit vielen Sporangien (Abb. 37/1,2).

Auf Nährböden bereitet die Kultur der Keratin-Actinoplacaceen noch immer größere Schwierigkeiten (vgl. KANE, 1966) als die der Pollenisolate. Relativ gutes Wachstum zeigen die Stämme auf Magermilch-Agar (Ca), bilden jedoch keine Sporangien. Verringert man die Milchkonzentration, so geht eine mit dem Verdünnungsgrad zunehmende Anzahl von Kulturen zur Sporangienbildung über (s. Tabelle 8). Bei 22 der 29 hier genauer untersuchten Stämme führt diese Methode der Nährstoffverminderung zum Erfolg.

Tabelle 8: Sporangienbildung bei 20 Keratin-Isolaten. Anzahl der fertilen Stämme auf Magermilchnährböden unterschiedlicher Konzentrationen

Ca	Ca/2	Ca/3	Ca/4	Ca/6	Ca/10-K	Ca/20-K
0	9	9	9	13	16	16

Die beiden am stärksten verdünnten Nährböden wurden mit einer durch Erddekot und Hefeextrakt aufgebosserten Mineralsalzlösung (KEHE) angesetzt, um das Mycelwachstum

nicht durch den Mangel an den entsprechenden Stoffen zu beeinträchtigen. Sie können deshalb nur unter Vorbehalt mit den übrigen Verdünnungsstufen verglichen werden.

Bei zahlreichen Vertretern aller Isolierungsgruppen ließ sich ein Zusammenhang zwischen Kultivierungstemperatur und Sporangienbildung feststellen. Niedrigere Temperaturen begünstigen die Sporangienproduktion, während bei höheren Temperaturen - etwa oberhalb 30°C - die Tendenz zur Luftmycel- und Sporangienbildung zurückgeht, was natürlich nicht ausschließt, daß einige leicht sporulierende Stämme auch bei höheren Temperaturen noch fertil sind (z. B. SK 29 bei 37°C auf Ca/5-K). Im allgemeinen wird die Sporangienbildung bereits eingestellt, bevor das Wachstum infolge zu hoher Temperaturen merklich nachläßt.

2.2.3. Sporangiosporen

2.2.3.1. Allgemeines zu Größe und Form

Bei den vielsporigen Gattungen entstehen die Sporen in der auf S. 29 beschriebenen Weise durch Septierung (s. Abb. 34/1,2) aus den sporogenen Hyphen der Sporangien (VAN BRUMMELEN u. WENT, 1957; LECHEVALIER u. HOLBERT, 1965; LECHEVALIER et al., 1966; BLAND, 1968). Infolgedessen entspricht die Breite der Sporen etwa dem Myceldurchmesser. Die Länge kann je nach Septenabstand der Breite gleichen oder ein Mehrfaches von ihr betragen. Für *Spirillospora* sind bis zu $6\ \mu$ lange Sporen beschrieben (COUCH, 1963).

Im Wasser quellen die Sporen stark auf. Sie können ihr Volumen etwa verdreifachen und verursachen dadurch das Aufplatzen der sie umgebenden Sporangienwand (HIGGINS, 1967). Deutliche Größenunterschiede zwischen lebenden und fixierten Sporen (POTEKHINA, 1965) lassen sich durch diese Quellungsfähigkeit erklären. Bei acht willkürlich herausgegriffenen *Actinoplans*-Stämmen, von denen mir elektronenmikroskopische Sporenabbildungen zur Verfügung stehen, ermittelte ich eine durchschnittliche Spo-

rengröße von $0,8 \times 0,9 \mu$. In unfixierten wässrigen Präparaten betrug der Sporendurchmesser bei denselben Stämmen dagegen ungefähr $1,5 \mu$. Das zeigt, wie wichtig für die Brauchbarkeit der Meßwerte entsprechende Angaben über die Präparation der gemessenen Sporen sind.

In der Gestalt gleichen die Actinoplanaceen-Sporen den morphologischen Typen der Eubacteria. Folgende Formen sind beschrieben:

- a) Kugelige Sporen (*Actinoplanes*, *Streptosporangium*, *Kitasatoa*). Nach COUCH (1954) findet man nur selten wirklich kugelige Sporen (s. Abb. 8/6). Meist sind sie "subglobose" (Abb. 8/3), "angular" (Abb. 8/4,5) oder annähernd birnförmig (Abb. 8/7).
- b) Ellipsoide bis kurz zylindrische Sporen (*Streptosporangium*, *Amorphosporangium*, *Dactylosporangium*, *Kitasatoa*). Mitunter sind sie leicht gekrümmt (Abb. 8/8). Bei *Dactylosporangium* können sie auch birnförmig sein. Sie nehmen eine Zwischenstellung ein und lassen sich in ihren weniger typischen Erscheinungsformen nicht klar gegen die runden oder stäbchenförmigen Sporen abgrenzen.
- c) Stäbchenförmige Sporen (*Ampullariella*, *Spirillospora*, *Pilimelia*, *Planomonospora*, *Planobispora*, *Streptosporangium*, *Kitasatoa*). Sie sind normalerweise wenigstens zweimal so lang wie breit. Vor allem unter den längeren Stäbchen kommen oft auch gebogene Formen vor (Abb. 38/8). Bei *Spirillospora* sind sie zuweilen spiralig (COUCH, 1963).

Alle genannten Sporenformen finden sich bei den Pollenisolaten (s. Tafel 8). In der Gruppe der Erdausstrich-Isolate sind ovale bis kurz stäbchenförmige Sporen vorherrschend (Tafeln 1 bis 6). Bei den keratinophilen Stämmen habe ich dagegen nur stäbchenförmige Sporen gefunden (s. Tafel 9;

Abb. 37/4,5,6; Abb. 38/8).

2.2.3.2. Aplanosporen

Die Sporangiosporen fast aller bisher beschriebenen Actinoplanaceen-Gattungen sind mit Geißeln ausgestattet und zu rascher Bewegung befähigt. Nur *Streptosporangium* hat unbegeißelte Sporen. In der Literatur (WILLOUGHBY, 1969 b) werden zwar auch Formen mit beweglichen Sporen zu *Streptosporangium* gestellt. Das steht aber im Widerspruch zur Gattungsbeschreibung (COUCH, 1955 a) und erscheint überdies im Hinblick auf die Bedeutung dieses Merkmals nicht sinnvoll.

Bei meinen Stämmen weist die gesamte Gruppe der Ausstrich-Isolate mit nur zwei Ausnahmen (SS 82, SS 163) unbewegliche Sporen auf. Durch ihre Geißellosigkeit, aber auch durch die bereits besprochenen Gemeinsamkeiten in der Sporangienform und Luftmycelbildung sind diese Isolate als Angehörige der Gattung *Streptosporangium* charakterisiert.

Viele Stämme der Gruppe unterscheiden sich in ihrem Koloniehäbitus und den physiologischen Eigenschaften so deutlich voneinander, daß sie ganz sicher verschiedenen Arten zugerechnet werden müssen, lassen aber in der Morphologie ihrer Sporangien keine entsprechenden Unterschiede erkennen. Auch in der Literatur wird für alle beschriebenen Arten die gleiche Sporangienform genannt.

Vergleicht man dagegen die in den Artdiagnosen gemachten Angaben zur Sporengestalt, so kann man auf die Existenz artcharakteristischer Sporenformen schließen (s. Tabelle bei SCHÄFER, 1969). *Streptosporangium rubrum* ist danach z. B. durch kugelige Sporen von den anderen Arten unterschieden.

In der Hoffnung, die Isolate auf diese Weise unter morphologischen Gesichtspunkten ordnen zu können, habe ich die Stämme SS 1 bis SS 69 sowie die *Streptosporangium*-Vergleichsstämme elektronenmikroskopisch auf ihre Sporenmorphologie hin untersucht. Beispiele der

gefundenen Formen sind auf den Tafeln 1 bis 7 abgebildet, geordnet nach der Artenzugehörigkeit der Isolate, die allerdings mit Hilfe anderer Merkmale ermittelt werden mußte. Die Fotos zeigen z. T. einzelne Sporen, in der Regel jedoch kurze Sporenketten, die mitunter noch durch ihre gebogene (z. B. Abb. 2/9) oder zum Kreis geschlossene (Abb. 1/11,14) Form auf die spirale Anordnung im Sporangium hindeuten.

Wie aus den Abbildungen zu entnehmen ist, weisen die Sporen keine bedeutenden Unterschiede auf. Die Sporenoberfläche ist im allgemeinen glatt, in einigen Fällen auch leicht gerunzelt (z. B. Abb. 6/3,6; Abb. 3/5). Haare, Stacheln und Warzen, wie sie bei *Streptomyces* vorkommen (FLAIG et al., 1955) sind nicht vorhanden. Da diese Skulpturen aus der äußeren Sporenhülle hervorgehen, die entwicklungsgeschichtlich der Sporangienwand der Actinoplanaceen zu entsprechen scheint (s. S. 29), ist bei den Sporangiosporen eine raue Oberfläche von vornherein eigentlich nicht zu erwarten.

Zu den glatten Sporen vieler *Streptomyces*-Arten besteht eine auffallende Ähnlichkeit, sowohl in der Sporenform als auch im Auftreten von Bereichen unterschiedlicher Durchstrahlbarkeit. Elektronendichter sind die Pole (Abb. 1/2) oder die seitlichen Polkanten (z. B. Abb. 1/6; Abb. 2/6,9), vor allem aber ein mehr (Abb. 1/15) oder weniger (Abb. 1/6) breites, die Pole verbindendes Längsband auf der ehemaligen Konkavseite der Spore (vgl. auch die Abb. bei LECHEVALIER et al., 1966). Ist dieses Längsband schmal, so ergibt sich eine etwa doppel-T-förmige Zeichnung (Abb. 5/6). Die weniger durchstrahlbaren Bezirke stellen Verdichtungen und Falten (Abb. 5/4) der Sporenhülle dar. Wie man aus Abb. 33/2 entnehmen kann, entstehen sie beim Reifen der Sporen durch das Abrunden der Pole an den Grenzen zwischen den einzelnen Gliedern der Sporenkette.

Die sporogenen Hyphen werden bei der Sporenbildung nicht immer in gleichmäßigen Abständen unterteilt (Abb. 33/2),

so daß in derselben Kette nebeneinander Sporen von unterschiedlicher Form auftreten können (z. B. Abb. 1/9; Abb. 6/2,3,7). Meist sind sie länger als breit und von annähernd ovaler Gestalt. Auch kugelige Sporen kommen vor (Abb. 4/2,4), bleiben aber zahlenmäßig weit hinter den ellipsoiden Formen zurück, selbst bei den elf untersuchten Isolaten von *Streptosporangium rubrum* (Tafel 3), die nach der auf drei Stämmen basierenden Artdiagnose (POTEMKHINA, 1965) eigentlich vorwiegend kugelige Sporen aufweisen sollten. Leicht gekrümmte oder gerade Stäbchen sind ebenfalls anzutreffen, im allgemeinen vereinzelt neben ellipsoiden Sporen (z. B. Abb. 1/2), bei *Streptosporangium longisporum* hingegen in größerer Anzahl (Abb. 4/8,9,10). Daneben kommen bei den Stämmen dieser Art aber auch Sporen von der üblichen Gestalt vor (Abb. 4/10). Die kantigen Sporen mancher Abbildungen (z. B. Abb. 1/9; 3/8; 5/4) entsprechen vermutlich nicht den natürlichen Formen, sondern sind wahrscheinlich auf Veränderungen bei der Präparation und im Vakuum zurückzuführen.

Ebenso wie in der Form sind auch in der Sporengröße beim gleichen *Streptosporangium* - Stamm häufig stärkere Schwankungen möglich (z. B. Abb. 3/10; 4/10; 6/2). Bei den abgebildeten Sporen liegen die Maße zwischen 0,5 und 1,2 μ in der Breite sowie 0,7 und 2,7 μ in der Länge.

Unreife und zu früh aus dem Sporangium befreite Sporen erscheinen mitunter besonders groß, wohl vor allem deshalb, weil die zunächst aus den sporogenen Hyphen abgegliederten Bereiche anfangs noch größere Einheiten darstellen können, die erst etwas später durch ein weiteres Septum auf normale Größe herabgeteilt werden (s. Abb. 33/2; vgl. auch LECHEVALIER et al., 1966).

Gelegentlich zeigen die unfixierten Sporen elektronenoptisch zahlreiche kleine, dunkelgefärbte globuläre Einschlüsse (Abb. 3/5; 4/8; 6/4). Sehr junge Sporen von Stamm SS 2 (*Streptosporangium*

r u b r u m) enthielten je einen oder zwei beträchtlich größere (ca. $0,1 \mu$) elektronendichte Körper (Abb. 34/4), die bei starker Vergrößerung bläschenartige Strukturen aufwiesen (Abb. 34/3,5). Auch diese elektronendichten Einschlüsse dürften wohl weniger ein taxonomisch brauchbares Merkmal darstellen, als vielmehr eher vom Entwicklungszustand der Sporen abhängen und deshalb in einem bestimmten Stadium allgemein anzutreffen sein.

Aus alledem ergibt sich, daß die Sporenmorphologie zur Charakterisierung der untersuchten *S t r e p t o s p o r a n g i u m* - Stämme - *S. l o n g i s p o r u m* ausgenommen - wenig geeignet erscheint, da oft bereits beim einzelnen Stamm alle vorkommenden Sporenformen und -größen, die ohnehin nicht wesentlich voneinander abweichen, zu finden sind. Auch die mituntersuchten Vergleichsstämme machen darin keine Ausnahme.

2.2.3.3. Zoosporen

Größere morphologische Unterschiede liegen bei den begeißelten Sporen vor. Sie ergeben sich aus den verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten von Geißelanordnung, Geißelzahl und Sporenform und sind im allgemeinen gattungscharakteristisch. Bei den einzelnen Arten ein- und derselben Gattung stimmen die Zoosporen aber ebenso wie die Aplanosporen von *S t r e p t o s p o r a n g i u m* im wesentlichen überein. In der Literatur werden für die einzelnen Gattungen folgende Begeißelungstypen genannt:

- 1) monotrich monopolar
 - *P i l i m e l i a* (KANE, 1966)
 - *K i t a s a t o a* (MATSUMAE et al., 1968)
- 2) polytrich
 - a) ein Geißelbüschel an $\pm$ kugeligen Sporen
 - *A c t i n o p l a n e s* (COUCH, 1950)
 - b) polar polytrich (= lophotrich)
 - *A m p u l l a r i e l l a* (KANE, 1966; HIGGINS et al., 1967)

- A m o r p h o s p o r a n -
g i u m (KANE HANTON, 1968)
- S p i r i l l o s p o r a
(nach COUCH, 1963)
- D a c t y l o s p o r a n -
g i u m (s. S. 21; HIGGINS
et al., 1967)
- wahrscheinlich auch P l a -
n o m o n o s p o r a
(THIEMANN et al., 1967 b)
- c) subpolar polytrich - S p i r i l l o s p o r a
(nach HIGGINS et al., 1967)
- d) peritrich - P l a n o b i s p o r a
(THIEMANN, 1970)
- D a c t y l o s p o r a n -
g i u m , die Stämme mit
großen zylindrischen Sporen
(THIEMANN, 1970)

Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen an einem noch unbeschriebenen Stamm aus der Sammlung COUCH (BLAND, 1970) besteht jede Geißel aus einem dicht gewundenen Schraubenband, das sich aus fünf oder sechs Subfibrillen zusammensetzt. Beim Schwimmen bilden die oft recht zahlreichen Geißeln einer Spore morphologisch und funktionell eine Einheit. Sie sind - wie das schon seit längerem für Sporen von *A c t i n o p l a n e s* bekannt ist (KOCH, 1956) - zu einem Strang zusammengefaßt, der als Schubgeißel wirkt (BLAND, 1970). Für die elektronenoptische Nachweisbarkeit dieses Geißelstranges ist es notwendig, daß schwärmende Sporen möglichst rasch und ohne vorherige Fixierung auf die Netze aufgetrocknet werden (KOCH, 1956)¹⁾ Andernfalls erscheinen die Geißeln nicht in ihrer Funktionsform, sondern als ausgebreitete Büschel. Derartige Sporenpräparate haben allerdings den Vorteil, daß sich die Anzahl der Einzelgeißeln leichter erkennen läßt.

1) LOCCI u. PETROLINI BALDAN (1971) konnten bei Untersuchungen mit dem Raster-Elektronenmikroskop bei *A c - t i n o p l a n e s p h i l i p p i n e n s i s*, *P l a n o b i s p o r a l o n g i s p o r a*, *P l a n o m o n o s p o r a p a r o n t o s p o r a* und *S p i r i l l o s p o r a a l b i d a* nur ein-geißelige Sporen feststellen. Möglicherweise lassen sich diese von den Ergebnissen anderer Autoren abweichenden Befunde dadurch erklären, daß bei der Präparation (einfaches Auftrocknen oder Fixierung durch Räuchern über 1 % OsO₄) der Geißelstrang als Funktionseinheit erhalten geblieben ist.

Tafel 8 zeigt eine Auswahl von Sporen verschiedener Pollen-isolate. Trotz Fixierung scheint bei der Spore von Abbildung 5 ein Teil des Schubgeißelstranges erhalten geblieben zu sein. Abbildung 2 zeigt ein schwach aufgefächertes Geißelbüschel, Abbildung 6 eine Spore mit besonders zahlreichen ausgebreiteten Geißeln. Bei den Sporen der Abbildungen 2 bis 7 handelt es sich um typische *Actinoplane*s - Sporen, die mit den entsprechenden Abbildungen in der Literatur (KOCH, 1956; LECHEVALIER u. HOLBERT, 1965; HIGGINS et al., 1967; BLAND, 1970) gut übereinstimmen.

Das polar begeißelte Stäbchen auf Bild 1 stellt eine Spore von *Ampullariella regularis* dar. Die Aufnahme bestätigt, daß diese Art nicht eingeißlige (COUCH, 1963), sondern mehrgeißlige (KANE, 1966; HIGGINS et al., 1967) Sporen hat.

Mit mehreren Geißeln sind auch die stäbchenförmigen Sporen der Keratin-Isolate ausgestattet. Bei den Stämmen mit columellaartig verlängerten Sporangioophoren (*Pilimelia columellifera*, s. S. 190 ff.) habe ich Sporen mit einem lateral, etwa in der Mitte des Stäbchens inserierten Geißelbüschel gefunden (Abb. 37/4, 5, 6). Das Büschel besteht aus wenigen Geißeln, die auf den Abbildungen 37/5 und 37/6 zunächst über eine größere Strecke gemeinsam verlaufen und so den Eindruck einer besonders dicken Geißel vermitteln. Vermutlich bilden auch hier die Geißeln bei der schwimmenden Spore eine Einheit.

Den gleichen Begeißelungstyp weisen andere keratinophile Stämme auf, die ich auf Grund ihrer Eigenschaften und der Ähnlichkeit mit der Vergleichskultur für identisch mit *Pilimelia terevasa* halte (Abb. 9/1, 2, 3). Allerdings sollten bei dieser Art entsprechend der Diagnose polar monotrich begeißelte Sporen vorkommen (KANE, 1966). Die Vergleichskultur selbst konnte ich noch nicht elektronenmikroskopisch untersuchen, da sie bis jetzt nicht in ausreichendem Maße Sporangien bildet. Sporen mit median angeheftetem Geißelbüschel gibt es unter

den *Eubacteria* bei der Gattung *Selenomonas* (s. Bergey's Manual, 1957, S. 258). Actinoplanaceen mit derartiger Begeißelung sind bisher nicht beschrieben worden.

Sehr viel Ähnlichkeit mit der Abbildung 10 bei KANE (1966) zeigen die Sporen von Stamm SK 29 (Abb. 9/4,5,6), einem Keratin-Isolat, dessen oft zylindrische Sporangien (Abb. 35/12,13) stark an diejenigen von *Ampullariella regularis* erinnern (vgl. insbesondere die Abb. 29/1 und 35/13). Auf den ersten Blick erscheinen die Sporen subpolar monotrich begeißelt (Abb. 9/4,5). Bei stärkerer Vergrößerung wird aber deutlich, daß sich die vermeintliche, ziemlich lange Einzelgeißel aus mehreren - bei der Spore von Abb. 9/5 aus drei - Geißeln zusammensetzt (Abb. 9/6), die eng aneinanderliegen. Sie unterscheiden sich durch ihre Größe, durch ungleiche Länge und durch höchstens geringfügige Verflechtung von den oben genannten Subfibrillen. Es liegen also auch in diesem Fall mehrgeißlige Sporen vor. Geißelansatzstelle ist auch hier wieder nicht der Stäbchenpol, sondern wie bei den übrigen fünf von mir auf ihre Begeißelung untersuchten *Piliella*-Stämmen die Sporenlängsseite.

Längere Stäbchen mit gleichfalls mehreren Geißeln finden sich bei den Stämmen SK 30 und SK 31 (Tafel 38). Diese beiden Keratin-Isolate sind, da sie außerdem kugelige Sporangien mit spiraliger Sporenanordnung aufweisen, dadurch als Stämme der Gattung *Spirillospora* charakterisiert. Nach den vorliegenden elektronenmikroskopischen Aufnahmen ist die Begeißelung lophotrich (Abb. 38/9). Allerdings konnte ich nur eine kleine Zahl brauchbarer Bilder erhalten, da in den Präparaten viele Sporen ihre Geißeln abgeworfen hatten, so daß auch eine subpolare Begeißelung - wie sie von HIGGINS et al. (1967) beobachtet wurde - neben der polaren möglich scheint, zumindest aber nicht ausgeschlossen werden kann.

Komplikationen beim Nachweis der Begeißelung ergeben sich nicht nur zuweilen durch das Abwerfen der Geißeln. Mitunter bereitet es auch erhebliche Schwierigkeiten, die Sporen überhaupt und in ausreichender Zahl zum Schwärmen zu veranlassen. Daß für die Gattung *A m o r p h o s p o r a n g i u m*, wie bereits erwähnt (s. S. 18), zunächst unbewegliche Sporen beschrieben wurden (COUCH, 1963), die sich erst bei einer späteren Untersuchung als begeißelt herausstellten (KANE HANTON, 1968), ist auf derartige Schwierigkeiten zurückzuführen.

HIGGINS (1967), der die Bedingungen für das Ausschwärmen und die Geißelbildung bei einem *A c t i n o p l a n e s*-Stamm untersucht hat, beobachtete bei zunehmendem Alter der Sporen ein Nachlassen der Schwärmbereitschaft. Nach seinen Ergebnissen wird die Geißelbildung durch Casamino Acids (0,1 %), die Bewegungsfähigkeit durch Glucose (0,1 %) günstig beeinflusst. COUCH u. KOCH (1962) fanden, daß stäbchenförmige und spirallige Sporen in 1 %iger Lösung von Casamino Acids zum Schwimmen veranlaßt werden, und daß außerdem sowohl L-Arginin-HCl (6 mM) als auch Harnstoff (0,01 M) die Beweglichkeit wesentlich fördern.

Bei vielen meiner Pollen-Isolate genügte es, Sporangien in destilliertes Wasser zu bringen, um schwärmende Sporen zu erhalten. Dabei war es im allgemeinen von Vorteil, wenn auf das Sporangienmaterial ein Deckglas aufgelegt wurde (vgl. auch WILLOUGHBY, 1966; HIGGINS et al., 1967). Die Sporen der Keratin-Isolate schwärmten ebenfalls in destilliertem Wasser. Als gut geeignet erwies sich auch KEH-Lösung. Bei Stamm SE 1 (*A m p u l l a r i e l l a r e g u l a r i s*) führte Hefeextrakt (0,1 %; Oxoid) zum Erfolg. Die Lösung von Glucose und Casamino Acids in Phosphatpuffer (HIGGINS, 1967) ergab bei einigen schwierigen Pollenisolaten keine Verbesserung der Resultate. Entsprechendes berichten THIEMANN u. BERETTA (1968) über die Verwendung dieses Schwärmm mediums bei *P l a n o b i s p o r a*.

Der Verlust der Schwimmfähigkeit durch das Altern der Sporen scheint bei den einzelnen Stämmen unterschiedlich rasch einzutreten. Bei Stamm SB 47 (*Actinoplanaes*) konnte ich noch aus einer fünf Monate alten Kultur (Pollen, dest. H_2O) viele schnell schwimmende Sporen erhalten, ohne spezielle Lösungen verwenden zu müssen, während HIGGINS (1967) zweiwöchige Kulturen des von ihm untersuchten *Actinoplanaes* - Stammes bereits als alt bezeichnet und einen erheblichen Rückgang der Schwimmfähigkeit feststellt.

2.2.3.4. Zur Funktion der Sporen

Die Sporen der Actinomyceten gelten allgemein nicht als widerstandsfähige Dauerorgane; ihre Funktion wird in der Vermehrung und Verbreitung der betreffenden Organismen gesehen (s. WAKSMAN, 1967, S. 38). Bei Isolat SA 26, einem *Actinoplanaes* - Stamm mit kugeligen Sporen, zeigte sich aber sehr deutlich, daß die Sporen das vegetative Mycel erheblich an Lebensdauer übertreffen können. Nicht sporulierende Kulturen starben bei diesem Stamm sehr bald ab, unter normalen Bedingungen etwa innerhalb von zwei Monaten, während Abimpfungen aus alten, aber fertilen Kulturen, die zehn bis elf Monate bei Zimmertemperatur gestanden hatten und währenddessen völlig eingetrocknet waren, gut anwuchsen.

Eine gewisse Hitzeresistenz dürfte bei den Sporen einiger *Streptosporangium* - Arten vorliegen. NOMURA u. OHARA (1969 a, b) konnten nämlich aus Erdproben, die nach Trocknung bei Zimmertemperatur eine Stunde lang auf $120^{\circ}C$ erhitzt worden waren, Vertreter mehrerer Arten dieser Gattung isolieren.

2.2.3.5. Keimung

Die Keimung der Sporangiosporen erfolgt normalerweise mit einem oder, insbesondere bei stäbchenförmigen Sporen, mit

zwei Keimschläuchen. Sie beginnt in geeignetem Milieu¹⁾ schon wenige Stunden nach dem Ausschwärmen bzw. Freiwerden der Sporen. Die Keimschläuche wachsen in die Länge und verzweigen sich bald durch seitlich auswachsende Hyphen.

Auf Tafel 10 habe ich verschiedene Stadien der Keimung bei zwei *Actinoplanes* - Stämmen zusammengestellt. Abb. 12 zeigt Sporen von SA 7 mit einem Keimschlauch, der bei der einen Spore noch sehr kurz, bei der anderen schon stark verlängert, aber noch unverzweigt ist. Auf den Fotos 13 und 14 sind Sporen des gleichen Isolates mit je zwei Keimschläuchen abgebildet. Die Aufnahmen 1 bis 11 zeigen einzelne Schritte der Weiterentwicklung einer gekeimten Spore von SB 18 im Hängetropfen (Erddekokt, 10 %) bei 20°C. Sie wurden im Zeitraum von 16 1/2 bis 46 Stunden nach dem Beimpfen des Hängetropfens fotografiert.

Wie aus den Intervallaufnahmen zu ersehen ist, nimmt die Keimhyphye rasch an Länge zu und ändert dabei mehrfach ihre Wachstumsrichtung. Die erste Verzweigung wird nach etwa 18 1/2 Stunden an einer Krümmung im älteren Abschnitt der Hyphye angelegt (Abb. 10/2). Nach kurzem Längenwachstum zweigt eine Seitenhyphye zweiter Ordnung ab (Abb. 10/5), die sich bald soweit verlängert, daß hier der Eindruck einer dichotomen Verzweigung entsteht (Abb. 10/6,7). An der Haupthyphye werden vor und hinter der ersten Verzweigungsstelle weitere Seitenhyphen ausgebildet (Abb. 10/6-11), die z. T. aus der Schärfenebene herauswachsen und schließlich das Bild unübersichtlich werden lassen. Die gleichbleibenden Abstände zwischen der ursprünglichen Spore und den Verzweigungsstellen sind ein Beweis für die bekannte Tatsache, daß sich die älteren Hyphenabschnitte nicht mehr verlängern, sondern daß nur die Hyphenspitzen Wachstum aufweisen.

1) Nach den Beobachtungen von HIGGINS (1967) eignet sich eine Lösung von Glucose und Casamino Acids gut als Keimsubstrat für *Actinoplanes* - Sporen.

2.3. Zuordnung der Stämme zu den Gattungen auf Grund ihrer morphologischen Merkmale

2.3.1. Vorbemerkungen

Mit Hilfe der besprochenen morphologischen Merkmale und der zahlreich vorhandenen Unterschiede, insbesondere in der Morphologie der Sporangien und Sporen, lassen sich die einzelnen Isolate einer Reihe verschiedener Gattungen zuordnen. Die Bestimmung bis zur systematischen Kategorie der Gattung nach ausschließlich morphologischen Kriterien ist bei fertilen Stämmen normalerweise ohne Schwierigkeiten möglich, da die beschriebenen Gattungen der Actinoplanaceen - im Gegensatz zu denen der Eubakterien - deutliche morphologische Unterschiede aufweisen.

Lediglich zwischen *Amorphosporangium* und *Actinoplanes* besteht Unklarheit in der Abgrenzung, seitdem für die Sporen von *Amorphosporangium auranticolor* ebenfalls Begeißelung nachgewiesen wurde (s. S. 18). Stark unregelmäßig geformte Sporangien kommen nämlich nicht nur bei *Amorphosporangium*, sondern auch bei *Actinoplanes*, z. B. bei *A. utahensis* (COUCH, 1963) vor, und die Form der Sporen - bei *Actinoplanes* rundlich bis ellipsoid, bei *Amorphosporangium auranticolor* meist kurz stäbchenförmig, aber insgesamt von kugelig bis stäbchenförmig schwankend (KANE HANTON, 1968), bei *Amorphosporangium globisporus* kugelig (THIEMANN, 1967) - ermöglicht ebensowenig eine scharfe Trennung der beiden Gattungen. Ich betrachte daher auch Formen mit unregelmäßigen Sporangien und kurz stäbchenförmigen Sporen (z. B. SB 45) als Angehörige der Gattung *Actinoplanes*.

Die Isolate verteilen sich zu mehr als zwei Drittel auf die Unterfamilie *Actinoplanoidae* (normalerweise ohne gut entwickeltes Luftmycel, s. S. 31) mit den Gattungen *Actinoplanes*, *Ampullariella* und *Pilimelia*, zu knapp

einem Drittel auf die luftmycelbildenden Gattungen *Planomonospora*, *Spirillospora* und *Streptosporangium* der Unterfamilie *Streptosporangioideae*.

2.3.2. Actinoplanes

Zu dieser Gattung gehören - gekennzeichnet durch begeißelte, rundliche bis kurz stäbchenförmige Sporen und kugelige bis unregelmäßige Sporangien - 244 der insgesamt 526 isolierten Stämme. Das sind etwa 46 % der Isolate. Die Gruppe stellt die weitaus individuenreichste der hier vertretenen Gattungen dar.

Über vier Fünftel (82 %) der pollengeköderten Isolate sind *Actinoplanes* - Stämme. Unter den Isolaten, die auf andere Weise erhalten wurden, befinden sich nur wenige aus dieser Gattung, so daß sich die Gesamtzahl der *Actinoplanes* - Stämme bis auf wenige Ausnahmen fast ausschließlich aus Pollenisolaten zusammensetzt. Diese Ausnahmen (s. S. 80, Fußnote) sind fünf mit Pilzpulver (s. S. 54 f.) geködete Stämme (SB 48 bis 51, SB 53), ferner die beiden luftmycelfreien Stämme SS 82 und SS 163 aus der Gruppe der Erdausstrich-Isolate, außerdem Stamm SB 10, der mit Kakteenhaaren geködert wurde, sowie vier Isolate von Säugetierhaaren (SA 17, SE 3, SE 4, SE 209).

Nach der Sporangiengestalt und Sporenanordnung läßt sich eine grobe Einteilung der *Actinoplanes* - Stämme in drei Gruppen vornehmen:

- a) in Isolate mit unregelmäßig geformten Sporangien - sie stellen den größten Anteil -,
- b) in solche mit mehr oder weniger kugeligen Sporangien,
- c) in Stämme mit Ampullariella-ähnlichen Sporangien (s. S. 185 ff.).

Jedoch ist die Einordnung in eine dieser Gruppen bei manchen Stämmen, die eine Zwischenstellung einnehmen, nicht einfach.

Die Gruppen selbst zeigen trotz ähnlicher Sporangienmorphologie der zugehörigen Isolate keine Einheitlichkeit in

den Kulturmerkmalen und im physiologischen Verhalten. Sie bestehen offensichtlich aus einer Reihe von Arten, zu deren Charakterisierung in besonderem Maße nichtmorphologische Merkmale herangezogen werden müssen.

Da COUCH, dem eine in über 20 Jahren zusammengetragene wesentlich umfangreichere Stammsammlung zur Verfügung steht, eine Monographie der Gattung *Actinoplane*s angekündigt hat (COUCH, 1963), wird hier von einer genaueren Bearbeitung der Actinoplanes-Stämme abgesehen. Lediglich einige gut übereinstimmende Isolate, die durch ihre großen, Ampullariella-ähnlichen Sporangien (s. Tafel 39) auffallen und sich von den bekannten *Actinoplane*s - Arten deutlich unterscheiden, sollen als neue Art beschrieben werden (*Actinoplanes penicillatus*, s. S. 185 ff.).

2.3.3. Ampullariella

Die typischen Merkmale dieser Gattung - lophotrich begeißelte stäbchenförmige Sporen, im Sporangium in Form gerader, parallel verlaufender Ketten angeordnet - finden sich bei 44 Pollenisolaten und einem mit Pilzpulver geködeten Stamm (SA 28). Unter den auf andere Weise angeereicherten Stämmen ist die Gattung nicht vertreten. Einige Keratin-Isolate, insbesondere SK 29, erinnern zwar von der Sporangienform und Sporenanordnung her stark an *Ampullariella*, unterscheiden sich aber - soweit untersucht - durch die Art der Begeißelung (s. S. 100). Mit einem Anteil von etwa 15 % ist die Gattung die zweithäufigste unter den Pollenisolaten. An der Gesamtzahl der Stämme ist sie nur zu ungefähr 8 % beteiligt. Die vier beschriebenen Arten der Gattung lassen sich nach dem von COUCH (1963) zusammengestellten Bestimmungsschlüssel mit Hilfe der Sporangienmorphologie identifizieren. Mittelgroße zylindrische ("flaschenförmige") Sporangien, die oben ebenflächig abschließen, charakterisieren die Art *Ampullariella regularis*. Mit solchen Sporangien sind 15 Stämme ausge-

stattet: SB 2 (Abb. 29/1), SB 5 (Abb. 29/5), SE 1 (Abb. 29/2,6,13), SE 13, 21, 24, 34, 35, 38, 39, 42, 44, 45, 47, 59.

Ebenfalls mittelgroße, aber glockenförmige, gelappte oder auch stark unregelmäßige Sporangien mit oft höckeriger oberer Begrenzung werden für *Ampullariella campanulata* beschrieben. Derartige Sporangien haben die Stämme SE 80, 83 und 89 (Abb. 29/11).

Kleine gefingerte oder auch gelappte Sporangien kennzeichnen die Art *Ampullariella digitata*. Sie kommen bei den Stämmen SA 24, 25 (Abb. 29/3,7), SA 28, SE 177 und SE 188 vor, außerdem bei SB 30, 31 (Abb. 29/9, 10), SB 32, SE 201 und SE 207.

Ampullariella lobata mit großen, meist unregelmäßigen, gelappten Sporangien befindet sich nicht unter den Isolaten.

Einige *Ampullariella*-Stämme lassen sich nicht eindeutig zuordnen. SE 53, 58, 86 und 106 zeigen sowohl Merkmale von *Ampullariella regularis* als auch von *A. campanulata*. SB 4 kann als *Ampullariella digitata* angesehen werden, unterscheidet sich aber von den übrigen Stämmen dieser Art durch äußerst unregelmäßige Sporangien (Abb. 29/8,12). Zur Bestimmung und Charakterisierung dieser Isolate unsicherer Artenzugehörigkeit müssen andere, nichtmorphologische Merkmale mitverwendet werden.

2.3.4. Pilimelia

Zu dieser als keratinophil geltenden Gattung zählen 70 der 72 Keratin-Isolate. Sie gliedern sich in zwei morphologisch leicht unterscheidbare Gruppen. Die größere wird von 45 Stämmen gebildet, deren Sporangiosporen in parallelen geraden Reihen - den Verhältnissen bei *Ampullariella* vergleichbar - angeordnet sind (s. Tafel 35), die andere besteht aus 25 Isolaten, deren kugelige, ovale oder birnförmige Sporangien keine solche geradlinige Pa-

parallelorientierung der Sporenketten aufweisen, aber durch ein in das Sporangium hinein verlängertes Sporangio-phor, eine Columella, gekennzeichnet sind (s. Tafel 36, Abb. 5 - 10; s. auch S. 190 ff.). Gemeinsame Merkmale beider Gruppen sind die Stäbchenform der Sporen und die - soweit ich bei einer Auswahl von Stämmen feststellen konnte - lateral bis subpolar polytriche Begeißelung (s. S. 99 f., s. auch Tafel 9 und Abb. 37/4,5,6).

Unter den Isolaten der ersten Gruppe fällt SK 39 durch schmale, lange, zylindrische Sporangien auf (auf Haaren ca. $4 - 8 \times 12 - 25 \mu$), wie sie für *Pilimelia anulata* (KANE, 1966) charakteristisch sind. Die übrigen Stämme dieser Gruppe sehe ich als Vertreter von *Pilimelia terevasa* an, obgleich ausgesprochen kugelige Sporangien (KANE, 1966) weniger häufig vorkommen als solche, die mit den bei KARLING (1954) abgebildeten Formen übereinstimmen und oft breit keulenförmig, oval, herzförmig oder annähernd zylindrisch sind (s. Tafel 35).

2.3.5. Planomonospora

Mit den morphologischen Charakteristika dieser Gattung - kleinen, länglichen einsporigen Sporangien, die an gut entwickeltem Luftmycel gebildet werden - sind drei der Pollenisolate ausgestattet.

SE 101 trägt die Sporangien dicht nebeneinander in parallelen Doppelreihen an der Konvexseite gebogener Lufthyphen (Abb. 30/1,2) und ist dadurch eindeutig als *Planomonospora parontospora* gekennzeichnet.

Bei den Stämmen SE 100 und SE 149 stehen ähnliche Sporangien in der für *Planomonospora venezuelensis* charakteristischen Weise einzeln, in kleinen Gruppen oder in gefiederter Anordnung ("palm leaf pattern", THIEMANN, 1970).

2.3.6. Spirillospora

Auf Grund ihrer meist kugeligen Sporangien mit spiralig angeordneten stäbchenförmigen Zoosporen lassen sich fünf Stämme in diese Gattung einordnen. Drei davon (SE 87, 96, 152) gehören zur Gruppe der Pollenisolate, zwei wurden mit Mäusehaaren geködert (SK 30, 31). Die Stämme gleichen sich in der Morphologie ihrer Sporangien und Sporen weitgehend. Über die Artenzugehörigkeit muß nach Prüfung der Kulturcharakteristika und physiologischen Merkmale entschieden werden.

2.3.7. Streptosporangium

159 Stämme weisen die Merkmale dieser Gattung - unbegeißelte Sporen, kugelige Sporangien und Luftmycel - auf. Das sind etwa 30 % aller Isolate. *Streptosporangium* ist damit nach *Actinoplanes* die zahlenmäßig stärkste der hier vertretenen Gattungen. Fast ausschließlich um *Streptosporangium* - Stämme handelt es sich bei den Isolaten, die auf Agarplatten angereichert wurden (alle SS-Stämme außer SS 82 und SS 163), während nach den übrigen Verfahren keine Vertreter der Gattung geködert werden konnten.

Die einzelnen Stämme weichen morphologisch nicht wesentlich voneinander ab. Eine sichere Identifizierung der Arten läßt sich bei dieser Gattung nur unter Heranziehung von Kulturmerkmalen und physiologischen Eigenschaften erreichen.

2.4. Koloniemerkmale

2.4.1. Allgemeines

Gerade am Beispiel der Gattung *Streptosporangium* wird deutlich, daß morphologische Merkmale allein oft nicht ausreichen, um eine größere Zahl von Isolaten sinnvoll zu einheitlichen Sippen zusammenzufassen. Denn schon ein oberflächlicher Vergleich von Agarkulturen der einzelnen mikromorphologisch weitgehend über-

einstimmenden Stämme zeigt, daß auffällige Unterschiede im Koloniehabitus vorhanden sind, die eine weitere Untergliederung der morphologischen Gruppen ermöglichen.

LINDENBEIN (1952) unterstreicht die Notwendigkeit einer solchen Aufteilung. Eine Beschränkung auf die morphologisch charakterisierten Gruppen, schreibt er, führe zu systematischen Einheiten, "deren jede aus einer fast unübersehbaren Fülle von Biotypen bestehen würde. Eine solche Arteinteilung würde kaum praktischen Wert haben".

Für eine Charakterisierung der Stämme mit Hilfe von Kulturmerkmalen bieten sich Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit, in der Kolonief orm, in der Farbe des Substrat- und Luftmycels, gegebenenfalls auch in der Verfärbung des Nährmediums an, die fast immer leicht und ohne besondere Hilfsmittel feststellbar sind. Wichtigste Voraussetzung für die Brauchbarkeit ist die Konstanz der Merkmale. Weit mehr als bei den morphologischen Charakteristika kommt es hier auf die Einhaltung gleicher Kulturbedingungen an, wenn vergleichbare Ergebnisse gewonnen werden sollen.

Einen bedeutenden Einfluß auf die Erscheinungsform der Kolonien hat vor allem die Zusammensetzung des Nährbodens. Medien, die ein gutes, aber nicht zu üppiges Wachstum ermöglichen, sind im allgemeinen am besten geeignet, die Charakteristika der Stämme und Arten sichtbar zu machen, während zu reichhaltige Böden die Stämme mitunter zu luxurierendem Wachstum mit untypischer Ausprägung der Merkmale veranlassen.

Zur Charakterisierung der Isolate wurden von mir in erster Linie die von COUCH (1963) verwendeten Nährböden benutzt, da so ein Vergleich der Ergebnisse mit den entsprechenden Angaben in der Literatur möglich ist.

Auf den Tafeln 11 bis 26 sind Kolonieabbildungen einer größeren Zahl von Stämmen vergleichend zusammengestellt. Die betreffenden Isolate wurden bei etwa 25°C kultiviert und nach Beendigung der Hauptwachstumsphase fotografiert,

meist nach einem Zeitraum von ungefähr sieben Wochen.

2.4.2. Actinoplanes

Im folgenden sollen die bei der Kultur von *Actinoplanes* - Stämmen gewonnenen Ergebnisse mitgeteilt werden. Besondere Berücksichtigung finden vor allem die aus einheimischen Böden stammenden Isolate der SA- und SB-Gruppe.

2.4.2.1. Größe und Gestalt der Kolonien

Von den verwendeten Nährböden haben sich vor allem Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC) und Pepton-Czapek-Agar (PC), die beide zu ähnlichen Resultaten führen, gut bewährt. CPC diene als Medium für die Kultur der abgebildeten Kolonien. Hefe-Stärke-Agar (E) stellt ebenfalls ein sehr brauchbares Substrat dar, während auf Haferflocken-Hefe-Agar (HaH) und Czapek-Agar (Cz) ein Teil der Stämme nicht ganz so gut wächst. Ziemlich üppiges Wachstum zeigen viele Stämme auf Magermilch-Agar (Ca).

Auf ein und demselben Nährboden ergeben sich, wie aus den Abbildungen der Tafeln 11 bis 17 hervorgeht, bei den einzelnen Stämmen z. T. erhebliche Unterschiede in der Koloniegroße. Gut wachsende Kolonien erreichen einen Durchmesser von etwa 20 mm oder auch mehr (z. B. Abb. 12/6; 15/15; 16/16). Andere entwickeln sich wesentlich langsamer, und einige werden lediglich wenige Millimeter groß (z. B. SB 16, Abb. 12/20; SA 17, Abb. 13/15; SB 22, Abb. 15/13).

Unter den *Actinoplanes* - Vergleichskulturen befinden sich keine ähnlich langsamwüchsigen Stämme (s. Tafel 11, Abb. 1 - 5, 11, 12). Nur *Actinoplanes armeniacus* (Abb. 11/5) wächst schwächer als die übrigen Arten einschließlich *Amorphosporangium auranticolor* (Abb. 11/8), deren Kolonien sich in der Größe ungefähr entsprechen und mit denen der gut wachsenden Isolate vergleichbar sind.

Obwohl viele *Actinoplanes* - Stämme bis heute ihre Wachstumseigenschaften im wesentlichen unverändert beibehalten haben, ist bei der Verwendung der Koloniegröße als Klassifizierungsmerkmal dennoch Vorsicht geboten. Tafel 12, auf der jeweils mehrere Kolonien derselben Stämme nebeneinandergestellt sind, zeigt, daß sich die Ergebnisse nicht immer reproduzieren lassen. Offensichtlich kommt es bei fortgesetztem Kultivieren - zumindest auf diesem Nährboden (CPC) - nicht selten zu Abweichungen vom ursprünglichen Wachstumsverhalten, etwa infolge veränderter Nutzungsmöglichkeiten der gebotenen Nährstoffe. Deutliche Größenunterschiede weisen z. B. die Kolonien von SB 6 auf (Abb. 12/4: 17 mm ϕ ; Abb. 12/6: 24 mm ϕ). Wesentlich auffälliger sind die Unterschiede noch bei SB 7 (Abb. 12/7,8), SB 16 (Abb. 12/15,20) und SB 49 (Abb. 12/18,21).

Es überrascht nicht sehr, daß so unterschiedlich große Kolonien auch in ihrer eigentlichen Morphologie voneinander abweichen. Die kleinere Kolonie von SB 49 (Abb. 12/18) ist beispielsweise ziemlich stark in die Höhe gewachsen und erhält durch gekrümmte Mycelwülste und dazwischenliegende grubige Vertiefungen ein zerklüftetes Aussehen, während die größere (Abb. 12/21) demgegenüber flacher und wesentlich regelmäßiger wirkt. Sie weist nur im Zentrum schwach gebogene Wülste auf, an die sich eine breite, glatte, von radial verlaufenden Rinnen durchzogene Zone anschließt, die dann in einen ungegliederten flachen Randsaum übergeht.

Auch mehr oder weniger gleich große Kolonien eines Stammes unterscheiden sich mitunter erheblich in ihrer Gestalt. Als Beispiele hierfür seien Kolonien von *Actinoplanes philippinensis* (Abb. 11/1,2,3) und den Isolaten SB 9 (Abb. 12/9,10) und SB 14 (Abb. 12/11,14,19,23) vorgestellt.

Wie Abb. 11/3 zeigt, kann die Ausbildung des zunächst ziemlich charakteristisch wirkenden Randsaumes (Abb. 11/2) gänzlich unterbleiben. Läßt man die Randzone beim Vergleich

unberücksichtigt, so ergibt sich eine hinlängliche Übereinstimmung der drei Kolonien von *Actinoplanes philippinensis*.

Bei SB 9 (Abb. 12/9,10) sind die Unterschiede so groß, daß es schwerfällt, beide Kolonien - die eine besteht aus darmförmigen Wülsten, die andere ist flacher und hat eine grubige, geaderte Oberflächenstruktur - als Bildungen des gleichen Stammes anzusehen.

Mehrere Abwandlungsstufen eines einfachen Kolonietyps zeigen die Abbildungen von SB 14 (Tafel 12). Am wenigsten differenziert ist die auf Bild 11 dargestellte Kolonie. Sie besteht aus einem leicht erhöhten, mit wenigen radialen Rinnen versehenen zentralen Teil und einer breiten, ungegliederten und nahezu ebenen Randzone. Noch recht ähnlich ist die Kolonie der Abbildung 19, weist aber eine größere Zahl radial verlaufender Furchen mit stärker aufgewölbten Zwischenbereichen auf, während die auf Abbildung 23 dargestellte Kolonie infolge extremer Vermehrung der Rinnen und Wülste keine Übereinstimmung mehr mit der einfachen Form (Abb. 12/11) erkennen läßt. Eine Ableitung der beiden stärker gegliederten Kolonien von der weniger differenzierten ist leicht möglich, wenn man bei diesen zusätzlich zur normalen Ausbreitung in zentrifugaler Richtung ein intensiveres tangential ausgerichtetes Wachstum annimmt, welches vor allem in den älteren zentralen Bereichen der Kolonie zu mehr oder weniger zahlreichen radialen Aufwölbungen führt. Daß beide Oberflächenformen, die ebene und die stark unregelmäßige, aus demselben Impfmycel hervorgehen können, wird durch die Abbildung 14 belegt. Die Kolonie weist einen breiten flachwüchsigen und ungegliederten Sektor (zur Sektorbildung bei Actinoplanaceen s. COUCH, 1954) auf, besteht aber zum größeren Teil aus gefurchtem und aufgewölbtem Mycel¹⁾.

1) Ein weiteres Beispiel von Sektorbildung mit stark abgewandelter Oberflächenstruktur zeigt Abb. 16/4.

Wahrscheinlich sind für die Entstehung solcher oft außerordentlich verschieden aussehender Varianten nur geringfügige und leicht eintretende Änderungen der wachstumssteuernden Prozesse nötig. Es scheint, daß die Variabilität der Kolonien zumindest bei manchen Stämmen - vielfach stimmen Parallelkolonien auch recht gut überein (s. Abb. 11/11 und 11/12 sowie Abb. 12/16 und 12/17) - ziemlich groß ist. Ohne genaue Kenntnis der Variationsbreite wird es daher im allgemeinen nicht möglich sein, aus Unterschieden in der Koloniemorphologie auf Verschiedenartigkeit der betreffenden Stämme zu schließen. Umgekehrt kann aber Übereinstimmung im Koloniehabitus ein Hilfsmittel zur Identifizierung nahe verwandter Stämme sein (s. z. B. Abb. 15/10 = SB 19 und 15/11 = SB 20 oder Abb. 13/2 = SA 2, 13/3 = SA 3 und 13/6 = SA 7).

Beim Vergleich der abgebildeten eigenen *A c t i n o - p l a n e s* - Isolate mit den Kolonien der Typkulturen auf Tafel 11 (Abb. 1 - 5, 11, 12) ergibt sich keine wirklich überzeugende Übereinstimmung, obwohl Anklänge an die Kolonieform von *A c t i n o p l a n e s u t a h e n s i s* (Abb. 11/4) mehrfach vorhanden sind (z. B. Abb. 13/4).

Die Kolonien der einzelnen Isolate weichen z. T. sehr stark voneinander ab und weisen insgesamt eine außerordentliche Vielgestaltigkeit auf. Einen Eindruck von dieser Formenvielfalt mögen die Tafeln 12 bis 17 vermitteln.

Im Umriß sind die meisten Kolonien annähernd kreisförmig, z. T. auch stärker unregelmäßig (s. z. B. Abb. 12/8; 13/4; 14/1), im Vertikalschnitt erscheinen sie - läßt man die oft starke Gliederung der Oberfläche zunächst unbeachtet - gewöhnlich flach konvex, konvex oder erhaben, mitunter auch flach (s. z. B. Abb. 13/12). SA 17 (Abb. 13/15) wächst kegelförmig in die Höhe und unterscheidet sich auch durch eine locker schuppig-krümelige Konsistenz des Mycels von den knorpelig festen Kolonien der meisten anderen Isolate.

Die Oberflächen steriler Kolonien sind im allgemeinen glänzend. Massenhafte Sporangienbildung führt zu einem matten (s. Abb. 15/15, linke Seite der Kolonie) oder be-reiften (s. Abb. 12/11; 17/2) Aussehen. Einige Stämme neigen zur Ausbildung feuchter oder schleimiger Kolonieoberflächen, vor allem, wenn sie auf Kartoffel-Glucose-Agar (KG) kultiviert werden.

Die Mannigfaltigkeit der Kolonien wird zu einem großen Teil durch Unterschiede in der Oberflächenstruktur hervorgerufen. Spärlich gegliederte Kolonien kommen nur selten vor. Häufig wird die Oberfläche durch radial verlaufende Rinnen in wenige (s. Abb. 15/15) oder zahlreiche (s. Abb. 12/13) Sektoren unterteilt. Oft führen diese Rinnen nicht bis zum Zentrum. Die koloniemitte besteht dann meist aus unregelmäßigen Buckeln (Abb. 13/12) oder aufgewölbten und gewundenen Wülsten (s. z. B. Abb. 13/3). Solche Kolonien erinnern zuweilen sehr stark an manche Thalluswuchsformen von Flechten (s. insbesondere Abb. 12/6). Die einzelnen Sektoren können durch radiale Einschnitte oder durch vielfache Auffaltung in tangentialer Richtung (Abb. 16/17) weiter untergliedert werden. Bei einem Teil der Kolonien liegt keine deutliche Aufteilung in Sektoren vor. Ihr Aussehen wird dann etwa durch vorwiegend radial orientierte Falten (Abb. 13/5,12), unregelmäßig gewundene Wülste mit dazwischenliegenden Vertiefungen (s. z. B. Abb. 12/9,16,17,18; 15/7; 16/19) oder eine annähernd maulbeerartig strukturierte Oberfläche (Abb. 16/6) bestimmt.

Während viele Kolonien an ihrer Peripherie scharf gegen den Nährboden abgegrenzt sind (s. z. B. Abb. 15/7,10) und schon am Rand über die Agaroberfläche ragen, einige sogar dem Nährboden nur aufzusitzen scheinen, ohne tiefer in ihn einzudringen (Abb. 12/16,17; 15/13), weisen manche Kolonien einen hofartigen Saum feinen Mycels auf (s. z. B. Abb. 16/7,16). Dieser Saum strahlt oft mehrere Millimeter weit in das Substrat aus und zeigt im Gegensatz zum meist gekerbten Rand saumloser Kolonien (z. B. Abb.

16/21) gewöhnlich eine fein verästelte Struktur (z. B. Abb. 15/18).

2.4.2.2. Farbstoffe

Auffallender noch als morphologische Besonderheiten und Unterschiede sind die kräftigen und z. T. stark voneinander abweichenden Farben der Kolonien.

Am häufigsten kommen orangene Farbtöne in verschiedenen Abstufungen zwischen Goldgelb und leuchtendem Rot (z. B. SB 16, SB 17, SB 21 auf CPC) vor. Untersuchungen von SZANISZLO (1968) an Stämmen der Gattungen *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Amorphosporangium* und *Pilimelia* haben ergeben, daß die orangenen und gelben Mycelfarbstoffe nicht an die Zellwand gebunden sind, sondern im Protoplasma vorliegen und auf Grund ihrer Absorptionsspektren als Carotinoide angesehen werden können. Vielfach zeigen die Farben Beimengungen von Brauntönen unterschiedlicher Intensität, so daß auch alle Übergänge von Gelbbraun (z. B. SB 24) bis Rotbraun (z. B. SB 18) anzutreffen sind.

Dunkelbraune bis braunschwarze oder schwarze Mycelfärbung findet sich bei einigen Stämmen (SB 22, SE 124, 154, 157, 166, 197, 202, 208 u. a.) auf CPC-Agar und anderen Medien. Sie geht z. T. mit einer Dunkelfärbung des Substrates einher (insbesondere bei SE 157 und SE 197). Die schwarzen Kolonien von SE 154 und SE 166 zeigen auf Hefe-Stärke-Agar einen deutlichen Violettstich. Intensiv rotvioletttes Mycel bildet SB 45 auf CPC, Cz, Ca und anderen Nährböden. Grüne oder rein blaue Kolonien finden sich bei keinem der Isolate. Nur SE 102 weist auf Haferflocken-Hefe-Agar braunlich blauschwarzes Mycel auf, und Kulturen von SE 60 und SE 147 zeigen auf CPC dunkelblaue Bezirke im sonst orange-farbenen Mycel.

Verschiedenfarbige Kolonien bei ein und derselben Agarkultur sind öfter anzutreffen. Extreme Farbunterschiede kommen allerdings nicht häufig vor. Meist treten bei den farbvariablen Stämmen lediglich hellere und dunklere Ko-

lonien oder Kolonieteile von ähnlichem Farbgrundton nebeneinander auf. Durch gesondertes Abimpfen solcher Kolonien konnten von SB 14 und SB 49 je ein brauner und orangefarbener Stamm erhalten werden.

COUCH berichtet über Albino-Varianten (1954) und weiße Koloniebereiche (1963) bei Actinoplanaceen-Stämmen. Farbverlust ließ sich vereinzelt auch bei meinen Isolaten beobachten. Abbildung 13/3 zeigt eine Kolonie von SA 3 mit farbloser Mitte und einem unpigmentierten Sektor. Die dunklen Bereiche entsprechen den orange gefärbten Teilen der Kolonie.

Bei einer größeren Zahl von Isolaten (z. B. SA 2, 14, 15, 20, 22, 29 u. a.) entstehen auf ganz andere Weise fast farblose Kulturen. Die anfangs orangefarbenen Kolonien dieser *Actinoplanes*-Stämme bleichen nach Beendigung des Hauptwachstums ziemlich stark aus und weisen dann eine blaß gelbliche oder schwach bräunliche Färbung auf. Ein solches Verblassen der Mycelfarbe ist auch für die *Ampullariella*-Arten *A. regularis* und *A. lobata* beschrieben worden (COUCH, 1963).

SZANISZLO (1968) erhielt bei *Actinoplanes philippinensis* durch Dunkelkultur nahezu unpigmentiertes Mycel. Ein ähnliches Ergebnis erzielte ich bei 13 unter Lichtabschluß auf CPC-Agar kultivierten *Actinoplanes*-Stämmen der SA-Isolierungsreihe sowie einigen anderen Isolaten. Mit Ausnahme von SA 20 und SA 21 waren die Dunkelkulturen erheblich blasser gefärbt als die bei Tageslicht gewachsenen Parallelkulturen, die sich durch ein kräftig orangefarbenes Mycel auszeichneten. Dieser Befund steht in Einklang mit der Annahme, daß Licht die Farbstoffbildung beeinflusst (COUCH, 1954) und die Carotinoidsynthese bei *Actinoplanes*-Stämmen fördert (SZANISZLO, 1968).

Die rotgelben Mycelfarbstoffe sind als Carotinoide nicht

wasserlöslich. Viele Stämme produzieren weitgehend nur solche Pigmente. Sie vermögen daher ihr Kulturmedium nicht merklich zu verfärben oder rufen lediglich eine sehr schwache gelbliche bis bräunlichgelbe Tönung hervor.

Andererseits besitzen aber zahlreiche Isolate die Fähigkeit, insbesondere protein- und aminosäurehaltige Substrate braun, dunkelbraun oder schwarz zu färben. Über diese sogenannte Melaninbildung wird auf S. 148 ff. ausführlicher berichtet.

Nur wenige Stämme fallen durch andersartige lösliche Farbstoffe auf. SB 24 und SB 25 färben CPC- und Cz-Agar gelb bis grünlich gelb, SE 93 bildet auf E-, CPC-, Cz- und HaH-Agar einen kräftig orangenen bis bräunlich roten Farbstoff, und SE 208 produziert auf HaH ein moosgrünes Pigment. Von einem blauen Farbhof waren die aus den isolierten Sporangien hervorgegangenen Primärkolonien der Stämme SE 102 (auf HaH und KG), SE 151 (auf HaH) und SE 197 (auf E) umgeben. Die Subkulturen von SE 102 weisen eine blaugraue (CPC) bis blauschwarze (HaH), die von SE 151 und SE 197 eine braune bis schwarze (E, CPC) Nährbodenfärbung auf.

2.4.3. Ampullariella

Die Kolonien der *Ampullariella*-Stämme aus der SA- und SB-Isolierungsreihe sind auf den Tafeln 12, 14 und 15 bei den übrigen Pollenisolaten mit abgebildet. Sie fügen sich nach Größe und Form so gut ein, daß von diesen Merkmalen her eine Abgrenzung gegen die Gattung *Actinoplanes* nicht möglich scheint¹⁾. Wie weit die Übereinstimmung gehen kann, zeigen die Abbildungen von zwei nahezu identischen Kolonien der beiden Vergleichsstämme *Actinoplanes utahensis* (Abb. 11/4) und *Ampullariella lobata* (Abb. 11/7).

1) SZANISZLO u. GOODER (1967) kommen auf Grund von Zellwandanalysen zu der Ansicht, daß *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Amorphosporangium* und *Pilimelia* in einer einzigen Gattung zusammengefaßt werden sollten.

Demgegenüber weisen die Kolonien artgleicher Isolate mitunter erhebliche Unterschiede auf, wie sich aus einem Vergleich der Abbildungen 15/2 (SB 2), 12/1,2,3 (SB 5), 17/1 (SE 1) und 11/9 (CBS 193.64 = *Ampullariella regularis*) ergibt. Die Parallelkulturen von SB 5 gleichen sich in der Oberflächenstruktur der Kolonien und im Falle der Abbildungen 12/1 und 12/2 auch in der stark gelappten plasmodiumartigen Wuchsform, zeigen aber auch die Neigung zur Größenvariabilität (vgl. Abb. 12/2 und 12/3).

Auffallend gute Übereinstimmung untereinander und mit der Typkultur (Abb. 11/6) findet sich bei den Stämmen SA 24 (Abb. 14/4), SA 25 (Abb. 14/5) und SA 28 (Abb. 14/8) der Art *Ampullariella digitata*. Die Kolonien wachsen langsam, erreichen einen Durchmesser von etwa 8 bis 10 mm und haben eine stark gerunzelte Oberfläche. Sie entsprechen sich auch in der dunkelbraunen bis braunschwarzen Färbung der Koloniemitte. Nicht in diese Gruppe passen die Isolate SB 4 (Abb. 15/4), SB 30 (Abb. 15/17), SB 31 (Abb. 15/20) und SB 32 (Abb. 15/21), deren Sporangienmorphologie aber für eine Einreihung bei *Ampullariella digitata* spricht.

Die Kolonien dieser letztgenannten Stämme sind auf CPC orange bis braunrot, auf Cz orange bis rot gefärbt. Wie bei *Actinoplanes* herrschen auch bei *Ampullariella* solche Farben vor. COUCH (1963) weist darauf hin, daß für *Ampullariella campanulata* eine rost- bis purpurbraune oder schwarze Mycelfärbung auf Czapek-Agar charakteristisch ist. Sie findet sich bei den Stämmen SE 80, 83 und 89, die schon auf Grund ihrer Sporangienform als Angehörige dieser Art erkennbar sind (s. S. 107), aber auch bei den Isolaten SE 53, 86 und 106, deren Sporangien denen von *Ampullariella regularis* sehr nahekommen.

Eine Reihe von *Ampullariella*-Stämmen

produziert auf manchen Nährmedien ein gelbgrünes substratfärbendes Pigment, das in Kombination mit Melanoiden oft oliv erscheint. Es wird vor allem von *Ampullaria riellae digitata* auf Czapek-Agar gebildet (COUCH, 1963) und kommt bei den Isolaten SA 24, 25, 28, SB 4, 30, 31, 32 sowie SE 177 und SE 188 vor. Die beiden Stämme SB 3 und SB 35, die sich morphologisch nicht einordnen lassen, da sie in Kultur keine Sporangien mehr bilden, färben Cz- und CPC-Agar ebenfalls deutlich gelbgrün und können aus diesem Grund unter Vorbehalt zur Gattung *Ampullaria riellae* - wahrscheinlich sogar zur Art *A. digitata* - gestellt werden. Auch bei dem *Ampullaria riellae regularis* - Stamm SE 1 und den Isolaten SE 115 und SE 119 ist der gelbgrüne Farbstoff anzutreffen, tritt hier aber am deutlichsten auf CPC- und E-Agar in Erscheinung. Die Farbstoffbildung unterliegt oft starken Schwankungen und ist zuweilen nur schwach. Da der Farbstoff aber im UV-Licht gelbgrün fluoresziert, läßt er sich auch in geringen Konzentrationen leicht nachweisen und von gelblichen oder durch andere Pigmente verursachten grünlichgelben Substratverfärbungen unterscheiden.

Acht Stämme von *Ampullaria riellae regularis*, die Isolate SE 24, 34, 35, 39, 42, 44, 45 und 47 bilden auf Czapek-Agar einen intensiv bräunlich roten substratlöslichen Farbstoff; CPC-Agar färben sie rotbraun. SE 53, wahrscheinlich ein Stamm der Art *Ampullaria riellae campanulata*, zeichnet sich durch ein rotviolettetes lösliches Pigment auf Milch-Agar (Ca) aus.

2.4.4. Pilimelia

Nach den Befunden von KANE (1966), die als erste diese ke-
ratinophilen Organismen reinzüchtete und auf Agarnährböden
kultivierte, wachsen die beiden von ihr beschriebenen Ar-
ten *Pilimelia terevasa* und *P. anulata* wesentlich langsamer als andere Actino-
planaceen. Den besten Erfolg erzielte sie auf Pepton-Cza-

pek-Agar. Auf diesem Medium wachsen die Kolonien, wie die Autorin berichtet, entweder ganz auf der Agaroberfläche oder dringen höchstens geringfügig in den Nährboden ein, sind von dichter, aber sehr weicher Beschaffenheit und weisen eine blaßgelbe bis zitronengelbe Färbung auf.

Ich habe für die Kultur meiner *Pilimelia*-Stämme vornehmlich Magermilch-Agar (Ca), halbkonzentrierten Milchagar (Ca/2) oder stärkere Verdünnungen dieses Nährbodens, die dann meist mit Mineralsalzen oder zusätzlich noch mit Rinderhornmehl angereichert wurden (z. B. Ca/20-Ho), verwendet. Auf diesen Medien lassen sich alle Kertin-Isolate relativ gut kultivieren. Die Böden mit geringerem Milchanteil ergeben zwar eine weniger gute Mycelausbeute, gestatten aber ein weit besseres Anwachsen des Impfmateri als der normale Milchagar und begünstigen darüberhinaus die Sporangienbildung (s. S. 91).

Ca/20-Ho stellt ein Substrat dar, auf dem auch Abimpfungen von mehrere Wochen alten Kulturen (sechs Wochen und älter) meist noch ohne Schwierigkeiten anwachsen; daß Sporangien auf diesem Medium leicht keimen, wurde bereits erwähnt (s. S. 66). Beimpfte Schrägröhrchen weisen meist sehr viele klein und flach bleibende, je nach Stamm gelblich bis braungefärbte Kolonien auf, die eine feste Konsistenz haben und bei diesem Nährboden nicht nur auf der Oberfläche wachsen, sondern gewöhnlich mit ihrem Mycel deutlich in den Agar eindringen und fest mit ihm verbunden sind.

Ein anderes Aussehen zeigen die Kulturen auf nährstoffreicheren Böden, etwa auf Ca/2. Die auf den Tafeln 25 und 26 abgebildeten Kolonien der Isolate SK 1 bis SK 29 sind auf diesem Medium gewachsen. Viele Stämme, auch die Vergleichskulturen von *Pilimelia anulata* (Abb. 26/22,23) und *P. terevasa* (Abb. 26/24,25) erreichen auf Ca/2 eine Koloniegröße, die mit ungefähr 10 mm Durchmesser derjenigen mancher *Actinoplanes*- und *Ampullariella*-Isolate durchaus vergleichbar ist. Bei den raschwüchsigen Kolo-

nien (s. Tafel 26) finden sich auch die von KANE genannten Charakteristika - Wachstum auf der Agaroberfläche und weiche Konsistenz -, die bei Verwendung von Tyrosin-Agar fast noch deutlicher in Erscheinung treten. Zwischen den meisten Kolonien der Tafel 26, auf der nur solche Isolate abgebildet sind, deren Sporangien keine Columella haben, besteht darüberhinaus auch in der Oberflächenstruktur recht gute Übereinstimmung (vgl. z. B. Abb. 26/1,6,8). Höcker, Warzen und gewundene Wülste unterschiedlicher Stärke, die bis in die ungleichmäßig gelappten und gebuchteten Randpartien der Kolonien reichen, verleihen der Oberfläche ein unregelmäßig zerteiltes Aussehen.

Die Vergleichsstämme weisen einen ganz ähnlichen Koloniehäbitus auf. Auch untereinander differieren die Kolonien von *Pilimelia annulata* und *P. terevasa* nur wenig. Bei *P. annulata* (s. die beiden identischen Parallelkulturen, Abb. 26/22 und 26/23) sind die Wülste schmalere und stärker verästelt als bei *P. terevasa* (Abb. 26/24,25), wodurch die Oberfläche feiner und reicher gegliedert erscheint. Beide sind blaß gelblich gefärbt.

Denselben oder einen etwas ins Bräunliche gehenden Farbton zeigen die Kolonien von SK 9 bis SK 19, während das Mycel der Isolate SK 20 bis SK 29 gelb bis goldgelb aussieht.

Goldgelb bis gelborange ist auch die Koloniefarbe der meisten Stämme mit Columella-Sporangien. SK 7, 8, 32, 53 und 66 unterscheiden sich durch farblose bis blaß bräunliche Kolonien, die zuweilen im Alter in der Mitte dunkelbraun bis schwarz werden. Im Gegensatz zu den goldgelben Kolonien, die stärker in die Höhe wachsen und eine warzigschuppige Oberfläche aufweisen (z. B. SK 1 bis SK 6, Abb. 25/1-6), bleiben die farblosen Kolonien flach und relativ eben (Abb. 25/7,8).

Es läßt sich also bei den Columella-Stämmen auf Grund von Unterschieden im Koloniehäbitus eine Trennung in zwei Gruppen vornehmen (s. S. 190 ff.). Der einen gehören 20

Isolate an, der anderen nur fünf. Übereinstimmung besteht bei beiden Kolonietypen in dem sehr langsamen Wachstum auf allen hier verwendeten Nährböden - der Durchmesser der Kolonien auf Ca/2-Agar beträgt meist kaum 5 mm - und in der festen Konsistenz des Mycels.

Diese beiden Merkmale grenzen die Kolonien der *P i l l i - m e l i a* - Stämme mit Columella-Sporangien weitgehend gegen die Kolonien der columellafreien Isolate ab. Allerdings kann es gelegentlich unter den letztgenannten auch schwachwüchsige Stämme geben, wie das Beispiel von SK 26 zeigt (s. Abb. 26/18, Kolonie; Abb. 35/11, Sporangium). Große, unregelmäßig wulstige Kolonien habe ich demgegenüber bei keinem der Columella-Stämme gefunden.

2.4.5. Planomonospora

Die morphologischen Unterschiede zwischen SE 101 einerseits und SE 100 und SE 149 andererseits finden ihre Entsprechung in voneinander abweichenden Kulturmerkmalen.

SE 101 wächst gut auf Haferflocken-Hefe-, Hefe-Stärke- und Casamino-Pepton-Czapek-Agar, weniger gut auf Czapek-Agar. Auf diesen Böden bildet der Stamm rote Kolonien, deren Farbe mit dem Altern verblaßt. Lösliche Pigmente werden nicht produziert. Lediglich Haferflocken-Hefe-Agar verfärbt sich schwach gelblich-bräunlich. Vor allem auf diesem Medium wird viel weißes bis schmutzig rosa gefärbtes Luftmycel entwickelt. Die genannten Befunde stimmen, soweit vergleichbar, mit den Angaben für *P l a n o - m o n o s p o r a p a r o n t o s p o r a* (THIEMANN et al., 1967) überein. Besser als beim Typusstamm sind hingegen das Wachstum auf Milchagar und die Peptonisierung des Caseins.

Bei den Stämmen SE 100 und SE 149, die sich auf den oben genannten Nährböden einheitlich verhalten, ist im Gegensatz zu SE 101 das Substratmycel ungefärbt. Substratlösliche Farbstoffe fehlen ebenfalls. Das Wachstum ist auf den angeführten Medien gut. Weißes Luftmycel wird reichlich gebildet, nicht jedoch auf Milchagar. Gegenüber dem

Typusstamm von *Planomonospora venezuelensis*, mit dem die beiden Isolate bis auf die etwas geringere Größe ihrer Sporangien morphologisch übereinstimmen, bestehen Unterschiede in der Koloniefarbe. THIEMANN (1970) gibt für Haferflocken- und Milchagar eine violette, für verschiedene andere Böden eine violettbraune oder braunviolette Färbung an, die ich bei meinen Stämmen nicht beobachten konnte.

2.4.6. Spirillospora

Die fünf Isolate dieser Gattung verteilen sich auf zwei Gruppen mit unterschiedlichen Kulturmerkmalen.

Bei den Stämmen SE 87, 96 und 152 ist das Substratmycel auf allen verwendeten Nährböden einschließlich Milchagar farblos bis blaß gelb. Insbesondere auf Haferflocken-Hefe- und Hefe-Stärke-Agar wird reichlich Luftmycel gebildet, das stets weiß aussieht. Die drei Isolate unterscheiden sich auf manchen Böden im Grad des Wachstums. Milchagar stellt z. B. für SE 87 und SE 152 ein weit besser geeignetes Substrat dar als für SE 96. Insgesamt stimmen aber alle drei Isolate so gut mit dem Typusstamm und der Diagnose von *Spirillospora albid a*, der einzigen bisher beschriebenen Art dieser Gattung, überein, daß sie als Angehörige dieser Art angesehen werden können.

Die Stämme SK 30 und SK 31 - beide wurden mit Keratin geködert - zeichnen sich durch rotes bis bräunlich rotes, zuweilen auch blaßrotes Substratmycel aus. Sie wachsen langsamer als die drei Isolate von *Spirillospora albid a* und erreichen auf allen benutzten Nährmedien nur eine Koloniegröße von wenigen Millimetern. Auf dem relativ gut geeigneten Milchagar beträgt der Koloniedurchmesser z. B. bloß 3 - 4 mm (Abb. 38/3). Luftmycel wird nur auf einigen Nährböden, wie Stärke- (St) und Maismehl-Agar (CM/2) gebildet. Reichlicher entwickelt es sich auf Maismehl-Agar mit Erdzusatz (CM/2-E), bedeckt aber auch hier nicht das gesamte Substratmycel, sondern

tritt meist in Form kleiner, weißer wolliger Flecken auf.

Die beiden Stämme erscheinen so verschieden von *S p i - r i l l o s p o r a a l b i d a*, daß sie als eine andere Art angesehen werden können. Ihre Beschreibung als *S p i r i l l o s p o r a r u b r a* folgt auf den Seiten 199 ff.

Weder bei diesen noch bei den drei obengenannten Isolat-ten konnte ich eine Blaufärbung von Pepton-Lösung (0,5 %) durch Spirillomycin (DOMNAS, 1968) oder von Czapek-Agar durch ähnliche Pigmente (McINNIS u. DOMNAS, 1970) beobachten. Es werden auch keine anderen Farbstoffe in das Nährmedium abgegeben.

2.4.7. Streptosporangium

2.4.7.1. Merkmale der beschriebenen Arten

Die meisten der 13 bisher beschriebenen Arten dieser Gattung stimmen in ihren mikromorphologischen Eigenschaften weitgehend überein. Charakterisiert und gegeneinander abgegrenzt sind sie vor allem durch Kultur- und physiologische Merkmale.

Welche Eigenschaften zur Kennzeichnung und Unterscheidung der einzelnen Arten verwendet werden, zeigt der folgende Schlüssel, den ich nach den Diagnosen - im Falle von *S t r e p t o s p o r a n g i u m r o s e u m* zusätzlich nach den Angaben von NONOMURA u. OHARA (1960) - zusammengestellt habe.

Schlüssel für die Arten der Gattung

S t r e p t o s p o r a n g i u m

zusammengestellt nach den Diagnosen sowie nach NONOMURA
u. OHARA (1960, 1969 b)

1. Melaninbildung (auf Medium Nr. 6 des ISP und anderen Substraten); Wachstum auch auf vitaminfreien synthetischen Medien2
 - Keine Melaninbildung; meist kein oder nur geringes Wachstum auf vitaminfreien synthetischen Medien (Ausnahmen: Streptosporangium albidum, S. rubrum, S. viridogriseum)3
 2. Luftmycel fehlend
S. sibiricum GAUZE et al. (1969)
 - Luftmycelbildung auf den üblichen Medien
S. indianesis GUPTA (1965)
 - 3(1). Fertiles Luftmycel rosa, blaß rosa oder schmutzig rosa-weiß 4
 - Fertiles Luftmycel anders 10
 4. Substratlöslicher Farbstoff (auf Haferflocken-Hefe-Agar, Hefe-Stärke-Agar u.a.) purpurn bis hell rötlich braun
S. roseum COUCH (1955)
 - Substratlöslicher Farbstoff fehlend oder blaß gelb bis gelb bis blaß gelbbraun 5
 5. Jodinin-Kristalle (auf Haferflocken-Hefe-Agar u. a.)
S. amethystogenes NONOMURA et OHARA (1960)
- Bei der Varietät nonreducens PRAUSER et ECKARDT (1967)
keine Nitratreduktion

- Keine Jodinin-Kristalle 6

- 6. Substratmycel karminrot (auf Haferflocken-Hefe-Agar
u. a.)
 S. rubrum POTEKHINA (1965)

- Substratmycel nicht karminrot oder dunkel weinrot ... 7

- 7. Substratmycel rot bis bräunlich rot; Sporen stäbchen-
förmig
 S. longisporum SCHÄFER (1969)

- Substratmycel blaß braun, gelblich braun, gelb bis
orange 8

- 8. Sporangien 10 - 15 μ ; keine Stärkehydrolyse
 S. nondiastaticum NONOMURA et OHARA (1969 b)

- Sporangien 7 - 10 μ ; Stärkehydrolyse 9

- 9. Kein Wachstum mehr bei 42°C; Abbau von Rhamnose und
Inosit; kein oder nur wenig Nitrit aus Nitrat
 S. vulgare NONOMURA et OHARA (1960)

- Wachstum bei 42°C; kein Abbau von Rhamnose und
Inosit; Bildung von Nitrit aus Nitrat
 S. pseudovulgare NONOMURA et OHARA (1969 b)

- 10(3). Fertiles Luftmycel weiß bis bräunlich weiß; keine
Stärkehydrolyse 11

- Fertiles Luftmycel gelblich grau bis grünlich weiß
oder hell grünlich grau; Stärkehydrolyse 13

- 11. Thermophil (Optimum 50 - 55°C, kein Wachstum unter-
halb 37°C)
 S. album var. thermophilum MANACHINI et al.
 (1965)

- Mesophil 12

12. Sporangien 6 - 8 μ ; kein Nitrit aus Nitrat; Gelatineverflüssigung; kein Wachstum auf vitaminfreien synthetischen Medien

S. album NONOMURA et OHARA (1960)

- Sporangien 10 - 30 μ (meist 25 μ); Bildung von Nitrit aus Nitrat; keine Gelatineverflüssigung; kein Vitaminbedarf

S. albidum FURUMAI et OKUDA (1968)

- 13(10). Luftmycel gelblich grau bis grünlich weiß; Sporangien 6 - 9 μ ; Sporen 1,0 - 1,3 x 1,5 - 1,9 μ ; kein Wachstum auf vitaminfreien synthetischen Medien 14

- Luftmycel hell grünlich grau; Sporangien 12 - 48 μ ; Sporen 0,2 - 1,0 μ ; kein Vitaminbedarf 15

14. Kein Nitrit aus Nitrat; kein Abbau von Inosit; keine Peptonisierung von Casein

S. viridialbum NONOMURA et OHARA (1960)

- Bildung von Nitrit aus Nitrat; Abbau von Inosit; Peptonisierung von Casein

S. viridialbum var. reducens NONOMURA et OHARA (1969 b)

- 15(13). Sporangien 20 - 48 μ ; Sporen 0,2 - 0,4 μ ; Bildung von Nitrit aus Nitrat

S. viridogriseum OKUDA et FURUMAI (1966)

- Sporangien 12 - 20 μ ; Sporen 0,4 - 1,0 μ ; kein Nitrit aus Nitrat

S. viridogriseum var. kofuense NONOMURA et OHARA (1969 b)

Meine *Streptosporangium* - Stämme bilden ausnahmslos Luftmycel. Ihre Sporen sind größer als $0,2 - 0,4 \mu$, und der Durchmesser ihrer Sporangien geht über 20μ nicht hinaus. Daraus ergibt sich, daß die morphologisch charakterisierten Arten *Streptosporangium sibiricum*, *S. viridogriseum* und *S. albidum* unter meinen Isolaten nicht vertreten sind. Die beiden Stämme SS 66 und SS 67 mit stäbchenförmigen Sporen wurden von mir bereits (1969) als *Streptosporangium longisporum* beschrieben.

Zur Identifizierung der übrigen Stämme ist ein Vergleich mit den Koloniemerkmalen - darüberhinaus zum Teil auch mit den physiologischen Eigenschaften - der beschriebenen Arten notwendig. Eine Zusammenstellung dieser Kulturmerkmale gibt Tabelle 9.

Streptosporangium	Luftmycel	Substratmycel	Substrat	Kristalle
albidum	weiß; bräunlich weiß; cremefarben.	farblos; blaß gelblich braun; blaß gelborange; rötlich braun; braun.	-	-
album	weiß	blaß gelb; gelbbraun;	blaß gelb	-
album var. thermophilum	weiß	elfenbeinfarben	-	-
amethystogenes	blaß rosa	blaß grau (HaH); blaß gelb bis bräunlich weiß; gelblich braun; graubraun.	-	Jodinin
amethystogenes var. nonreducens	blaß rosa	blaß grau (Ha)	-	Jodinin
indianesis	grauweiß; grau; dunkelgrau.	bräunlich gold; braun; dunkelbraun (Ha); purpurbraun.	braun	-
longisporum	rosa	rot (HaH); braunrot.	-	-
nondiastaticum	rosa	blaß gelbbraun (HaH); orange.	gelblich braun	-
pseudovulgare	blaß rosa	blaß braun (HaH); hellbraun.	blaß gelblich braun	-

roseum	rosa; blaß rosa	farblos; blaß gelb; cremebraun; olivbraun; braun; weinrot-braun; rötlich orange.	purpurn; purpurbraun; rötlich braun (wein- roter Stich); weinrot- braun.	-
rubrum	weiß bis blaß rosa; rosa (Ha); schmutzig rosa.	farblos bis blaß rosa; hell cremefarben; hellrot bis karmin- rot (Ha).	-	-
sibiricum	-	farblos, gelblich cremefarben, schwach rosa, rosa orange (Ha); rosa gelb; gelblich rotbraun; rotbraun; braun; graubraun; schwarz.	kastanienbraun; braun; schwarz.	-
viridialbum u. var. reducens	gelblich grau bis grünlich weiß	blaß gelb	blaß gelb	-
viridogriseum	grauweiß, bräun- lich weiß, hell bläulich grau; hell grünlich grau; olivgrau.	farblos; cremefarben; gelblich braun; rötlich gelb.	-	-
viridogriseum var. kofuense	grüngrau, oliv- grau	farblos; cremefarben; gelbl. braun; rötl. gelb	-	-
vulgare	blaß rosa bis rosa	gelb; blaß orange; gelbl. orange; orange; blaß rosa.	blaß gelb bis gelb	-

Tabelle 9: Kulturmerkmale der beschriebenen Arten und Varietäten der Gattung *Streptosporium* (nach den Diagnosen und nach NONOMURA u. OHARA, 1960)

2.4.7.2. Färbung des Luftmycels

Die Färbung des ausgereiften Luftmycels bietet bei *Streptosporangium* - anders als bei den übrigen Gattungen der Actinoplanaceen - eine weitere Möglichkeit zur Artendifferenzierung.

In der Streptomyceten-Systematik findet dieses Merkmal seit langem Verwendung (s. WAHSMAN, Vol.II, 1961) und hat sich auch bei neueren Untersuchungen (s. SHIRLING u. GOTTLIEB, 1970) als gut geeignet erwiesen. Je nach den Züchtungsbedingungen können Qualität und Intensität der Luftmycelfarbe eines *Streptomyces* - Stammes gewisse Schwankungen aufweisen, der Farbtyp bleibt aber weitgehend gleich (s. HÜTTER, 1967, S. 7). Dasselbe scheint auch für die Gattung *Streptosporangium* zuzutreffen.

Bei der Mehrzahl der beschriebenen Arten ist das Luftmycel rosa gefärbt. Diese Farbe kommt auch bei meinen Isolaten am häufigsten vor. Über drei Viertel der Stämme bilden auf Nährböden, die üppige Luftmycelentwicklung und reichliche Sporangienproduktion zulassen (Haferflocken-Hefe-Agar, Hefe-Stärke-Agar u. a.), ein blaß bis kräftig rosarotes Luftmycel (Abb. 40/8). Das Rosarot liegt oft nicht als reiner Farbton vor, sondern ist häufig schmutzig verfärbt oder mit gelblich-bräunlichen Tönen vermischt (Abb. 40/9,10,11,12). Bei weniger guter Entwicklung erscheint das Luftmycel meist weiß, mitunter auch dann, wenn zahlreiche Sporangien vorhanden sind, wie z. B. auf CPC-Agar bei einem Teil der Stämme von *Streptosporangium roseum*.

Grünliche Luftmycelfarben - sie sind für *Streptosporangium viridialbum* und *S. viridogriseum* beschrieben - konnte ich bei meinen Isolaten nicht beobachten. Weißes bis bräunlich weißes Luftmycel findet sich hingegen bei einer Reihe von Stämmen. Obwohl sich die Farbe des Luftmycels im allgemeinen leicht und eindeutig feststellen läßt, ergeben sich

dabei doch zuweilen auch Schwierigkeiten, z. B. dann, wenn eine schwache Rosafärbung durch bräunliche oder bräunlich graue Farbtöne überdeckt wird.

Während die Bestimmung der Luftmycelfarbe allein noch nicht unmittelbar zur Art führt - auch zwischen *Streptosporangium viridialbum* (gelblich grau bis grünlich weiß) und *S. viridogriseum* (hell grünlich grau) dürfte in der Praxis mit Hilfe dieses Merkmals nur schwer zu unterscheiden sein - ermöglichen einige andere Kulturmerkmale eine ziemlich sichere Identifizierung.

2.4.7.3. Jodininbildende Isolate

Durch die Produktion violetter Kristalle ist die Art *Streptosporangium amethystogenes* gekennzeichnet. Bei diesen Kristallen, die auf zahlreichen Nährböden gebildet werden, handelt es sich um Jodinin (PRAUSER u. ECKARDT, 1967), das auch bei mehreren *Microbispora*-Arten (meso- und thermophil) und einigen anderen Mikroorganismen vorkommt.

Fünf meiner *Streptosporangium*-Stämme (SS 1, 17, 59, 97, 136) besitzen die Fähigkeit zur Jodininbildung. Besonders reichlich entstehen die Kristalle auf Haferflocken-Hefe- und Hefe-Glucose-Mist-Agar. Bei schwach alkalischer Reaktion des Nährbodens (pH ; p_H 7,5) erscheint die Jodininbildung im Vergleich zum entsprechenden sauer eingestellten Substrat (p_H 6,1; 6,4) deutlich gefördert (SS 17)¹⁾. Auch die Kultivierungstemperatur beeinflusst die Kristallproduktion. Trotz noch guten, aber nicht mehr optimalen Wachstums bilden die daraufhin untersuchten Stämme SS 1, SS 17 und SS 59 bei 37°C kein Jodinin mehr. Die bizarr geformten Kristalle (Abb. 31/2,3) entstehen im Nährboden in unmittelbarer oder weiterer Umgebung der Substrathyphen und bedecken

1) Einstellung des p_H -Wertes nach TABER (1960). Die angegebenen Werte wurden nach dem Autoklavieren gemessen.

mitunter große Teile der Kolonien, die dadurch eine violette bis kupferfarbene, metallisch glänzende Oberfläche erhalten (Abb. 40/1).

Das Substratmycel weist bei allen Stämmen je nach Nährboden eine blaß- oder gelbbraune bis dunkelbraune Farbe auf, der Agar bleibt unverändert oder verfärbt sich schwach bräunlich (HaH).

Luftmycel wird im allgemeinen nur spärlich gebildet (s. auch PRAUSER u. ECVARDT, 1967). Gelegentlich entsteht es auch etwas reichlicher (Abb. 18/6), ist aber dann meist größtenteils steril.

Tafel 18 zeigt Kolonien der Stämme SS 1, SS 17 und SS 59. Auf CPC-Agar (Abb. 18/1,2,3) besteht ziemlich gute Übereinstimmung in Größe und Form, insbesondere zwischen den Kolonien von SS 17 (Abb. 18/2) und SS 59 (Abb. 18/3). SS 1 weicht durch hellbraune Färbung der gesamten Kolonie und einen unregelmäßigen, leicht gelappten Rand geringfügig ab. Auf Haferflocken-Hefe-Agar (Abb. 18/4,5,6) sind die Unterschiede zwischen den Kolonien der einzelnen Stämme etwas größer. SS 1 wächst größtenteils unter der Agaroberfläche (Abb. 18/4). Bei SS 17 ist die Kolonie flach und ungegliedert mit kleinlappig-bäumchenförmigem Rand (Abb. 18/5), befindet sich aber nicht tief im Agar wie bei SS 1. SS 59 zeigt etwas stärkeres Wachstum; die Kolonie ist flach konvex und weist eine Anzahl radial verlaufender Furchen auf (Abb. 18/6).

2.4.7.4. Isolate mit karminrotem Substratmycel

Karminrotes bis dunkel weinrotes, seltener auch bräunlich weinrotes Substratmycel charakterisiert die Art *Streptosporangium rubrum*. Mit diesem Merkmal sind 25 meiner Isolate ausgestattet. Die typische Koloniefarbe tritt auf den meisten der hier verwendeten Nährböden in Erscheinung, insbesondere auf Haferflocken-Hefe-Agar (s. Abb. 40/2), Hefe-Stärke-Agar, Hefe-Glucose-Erd-Agar, Cellulose-Agar und Czapek-Agar mit Stärke (CzSt). Auf Peptonnährböden (CPC-, Nitrat-, Nitrat-

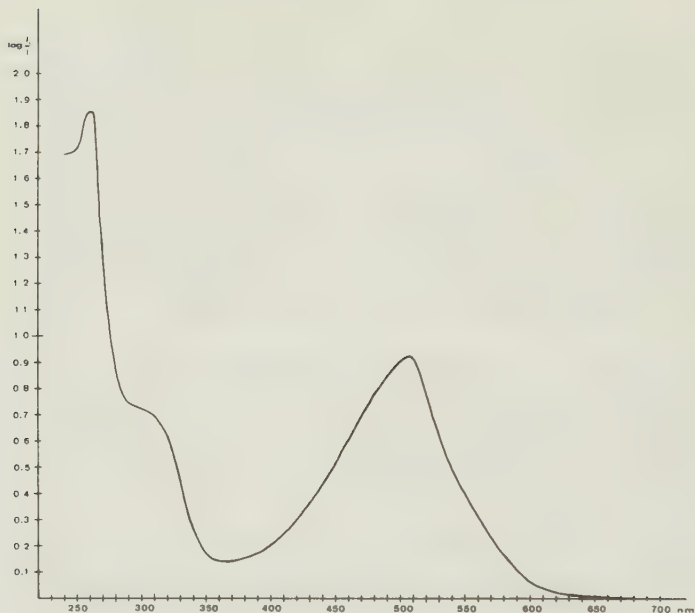
Hefe-Agar) ist das Mycel mitunter auch braunrot, blaß braunrot, rotbraun oder hell rötlich braun gefärbt.

Helle und dunkle Mycelfarben können auf diesen Medien nebeneinander in derselben Kultur vorkommen und treten nicht selten auch in Form von Sektoren bei ein und derselben Kolonie auf (Abb. 40/3). Selbst auf Haferflocken-Hefe-Agar kann die Farbe variieren. SS 15 hat im Verlauf des Weiterzüchtens seine ursprünglich weinrote Färbung verloren und wächst nun mit blaß braunem bis rötlich-bräunlichem Mycel; auf Czapek-Stärke-Agar (CzSt) erscheinen die Kolonien allerdings unverändert dunkel weinrot.

Frische Abimpfungen und junge, aus Sporen gekeimte Kolonien von *Streptosporangium rubrum* sind anfangs farblos. Nach ungefähr fünf bis sechs Tagen wird eine blaßrote Färbung sichtbar, die sich dann stetig bis zum dunklen Rot verstärkt.

Die Farbe diffundiert nicht nennenswert ins Nährmedium. Lediglich in unmittelbarer Umgebung der Kolonie ist der Agar mehr oder weniger rot gefärbt (Abb. 40/2). Zellulosepulver in Mycelnähe nimmt eine rote Färbung an.

Der Farbstoff zeigt Indikatorverhalten. Beim Ansäuern schlägt die Farbe von Weinrot nach Goldgelb um, im alkalischen Bereich ist sie karminrot bis violettrot. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich der Farbstoff blau. Unlöslich ist er in Wasser, Alkohol und Petroläther, gut löslich in alkalischen und sauren anorganischen und organischen Lösungsmitteln. Der Farbstoff läßt sich reduzieren und wieder oxydieren; bei Zugabe von Natriumdithionit verschwindet die Rotfärbung, beim Schütteln an der Luft tritt sie wieder auf. Die Absorptionsmaxima des gereinigten, in 0,1 N NaOH gelösten Farbstoffs liegen bei 260 und 508 nm, das Minimum befindet sich bei 365 nm (s. Abb.).



Absorptionsspektrum des Farbstoffes von *Streptopora angium rubrum* in 0,1 N NaOH

Meßgerät: Leitz RPQ 20 A

Die Gewinnung und Reinigung des Farbstoffs geschah auf folgende Weise:

Das Ausgangsmaterial bildeten etwa 150 Plattenkulturen von Stamm SS 32 auf Cellulose-Agar. Nach über dreimonatiger Bebrütung bei Zimmertemperatur wurde der Platteninhalt getrocknet (50°C), staubfein gemahlen und mit salzsaurem Äthanol (1 ml konz. HCl auf 200 ml 96 % Äthanol) unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die Extraktion wurde unter mehrfacher Erneuerung des Lösungsmittels fortgesetzt, bis sich der Farbstoffgehalt der Extrakte merklich verringerte.

Aus der heiß filtrierte Lösung fielen beim Abkühlen und Stehenlassen (Gefrierschrank) rote Flocken aus. Der amorphe Niederschlag wurde abzentrifugiert und in 0,1 N NaOH gelöst. Durch Zugabe von Salzsäure bis zum Farbumschlag von Karminrot nach Gelb ließ sich der Farbstoff größtenteils wieder ausfällen - auch in alkalischer Lösung bildet sich, sofern die Farbstoffkonzentration nicht sehr gering ist, beim längeren Stehen ein in diesem Fall violetter Niederschlag -. Der gefällte Farbstoff wurde mit dest. H₂O gewaschen, in 0,1 N NaOH gelöst und säulenchromatographisch an SEPHADEX G-25 gereinigt. Auf einen quantitativ unbedeutenden gelblichen und schmutzigvioletten Vorlauf folgte die kräftig karminrote Hauptfraktion, die nach einem zweiten Säulendurchgang zum Aufnehmen des Absorptionsspektrums verwendet wurde. Auch der gereinigte Farbstoff war nicht kristallisierbar, sondern ließ sich nur in Form amorpher Flocken ausfällen.

Die Stämme mit karminrotem Substratmycel stimmen auch in ihren übrigen Koloniemerkmalen weitgehend überein. Auf Tafel 20 sind Kolonien der ersten elf Isolate von *Streptosporangium rubrum* abgebildet, die nach sechs- bis siebenwöchigem Wachstum auf CPC-Agar fotografiert wurden.

Alle Stämme wachsen auf diesem Medium sehr gut, so daß in der Koloniegröße bei einem Durchmesser von 16 bis 19 mm nur unbedeutende Unterschiede bestehen.

Die kompakten Kolonien zeigen im Vertikalschnitt eine annähernd konvexe Form. Sie ragen insbesondere in ihrem mittleren Teil deutlich über die Agaroberfläche empor. Ihr Aussehen ist infolge zahlreicher radialer Rinnen, die bis zum geschlossenen, scharf gegen den Agar abgesetzten Rand führen, meist lichenoid (s. insbesondere Abb. 20/12). In Ausnahmefällen kann die Kolonieoberfläche aber auch überwiegend ungegliedert und glatt erscheinen, wie aus Abb. 20/6 (SS 25) hervorgeht. Eine normal gestaltete Kolonie des gleichen Stammes zeigt Abbildung 20/5.

Einige Kolonien weisen Bereiche mit schuppig-warziger bis fein gekräuselter Oberflächenstruktur auf. Bei den Kolonien der Stämme SS 2 (Abb. 20/1 und 40/3) und SS 27 (Abb. 20/7) ist diese stärkere Oberflächengliederung einzelner Sektoren mit einer dunkleren Färbung des betreffenden Mycels gekoppelt.

Hinsichtlich der Luftmycelbildung verhalten sich die Stämme nicht einheitlich. Bei manchen sind die Kolonien großflächig mit rosafarbenem bis weißem Luftmycel bedeckt (s. Abb. 20/8,11), bei anderen kommt Luftmycel nur punktförmig an wenigen Stellen vor (Abb. 20/10). Vielfach unterbleibt die Luftmycelbildung ganz. Auf Haferflocken-Hefe-Agar sind die Kolonien von *S t r e p t o s p o - r a n g i u m r u b r u m* hingegen im allgemeinen mit Luftmycel ausgestattet.

Das Wachstum ist auf diesem Nährboden (HaH) etwa ebenso gut wie auf CPC. Die Kolonien sind aber meist flacher und besitzen eine stärker unterteilte, kaum lichenoid Oberfläche. Sie schließen häufig mit einem oft mehrere Millimeter breiten Randsaum ab, der sich unter der Agaroberfläche ausbreitet und dicht und gefärbt (Abb. 40/2) oder auch dünn und farblos sein kann.

Haferflocken-Hefe-Agar und andere Nährmedien werden unter dem Einfluß wachsender Kulturen schwach bräunlich bis blaß braun gefärbt. Diese bräunliche Substratfärbung ist z. T. etwas kräftiger als bei den übrigen, nicht zu *S . r u b r u m* gehörenden Stämmen, kann aber noch nicht als Melaninbildung bezeichnet werden. Andere substratfärbende Pigmente finden sich bei *S t r e p t o - s p o r a n g i u m r u b r u m* nicht.

2.4.7.5. Isolate mit purpurfarbenem substratlöslichem Farbstoff

Die einzige wirklich auffällige Farbveränderung des Nährmediums tritt bei Kulturen von *S t r e p t o s p o - r a n g i u m r o s e u m* auf. Typisch für diese Art ist ein vor allem auf Haferflocken-Hefe-, Kartoffel-

Glucose- und Hefe-Stärke-Agar gebildeter Farbstoff, der von COUCH (1955 a) als blaß weinrot-braun (Hefe-Stärke-Agar) oder rötlich braun mit weinroter Tönung (Kartoffel-Glucose-Agar), von NONOMURA u. OHARA (1960) als purpurn (Haferflocken-Hefe-Agar) beschrieben wird.

Eine knappe und zugleich präzise Benennung des Farbtones ist nicht ganz leicht, da es sich um eine Mischfarbe handelt, deren Intensität zudem von Stamm zu Stamm recht unterschiedlich sein kann. Farbbild 12 der Tafel 40 zeigt die typische Färbung des Nährbodens (Haferflocken-Hefe-Agar), wie sie bei gut pigmentbildenden Kulturen (hier SS 40) nach mehrwöchigem Wachstum zu beobachten ist.

Von den 159 *S t r e p t o s p o r a n g i u m* - Isolat-
ten produzieren 47 ein solches substratlösliches Pigment.
Mit einem Anteil von knapp 30 % an der Gesamtzahl der
S t r e p t o s p o r a n g i u m - Stämme ist damit
S . r o s e u m die am häufigsten isolierte Art.

Die einzelnen Stämme weisen auch in anderen Kulturmerk-
malen meist gute Übereinstimmung auf. Bemerkenswerte Ähn-
lichkeit besteht bei vielen Isolaten im Aussehen der Ko-
lonien auf CPC-Agar (Tafeln 21 und 22). Das Substratmy-
cel ist auf diesem Nährboden nahezu farblos bis blaß
gelblich braun. Die Kolonien erreichen einen ansehnlichen
Durchmesser von häufig mehr als 20 mm, bleiben aber bis
auf den zuweilen unbedeutend ansteigenden mittleren Teil
völlig flach. Radial ausgerichtete Rinnen und mehr oder
weniger konzentrisch verlaufende Risse (s. z. B. Abb. 21/
5,7) kommen nur im zentralen Bereich der Kolonien vor und
sind für das Erscheinungsbild kaum von Bedeutung. Der
Rand kann fast glatt und geschlossen sein (Abb. 21/7,8),
ist aber meist gefranst bis verästelt (s. insbesondere
die Abb. 21/11,12 und 22/8). Die Kolonien bilden im all-
gemeinen ein weißes, nur schwach entwickeltes reifarti-
ges Luftmycel, das die Oberfläche nicht gleichmäßig und
vollständig bedeckt, sondern gewöhnlich in konzentrischen
Ringern (s. z. B. Abb. 21/2,12) und einzelnen Sektoren (s.

z. B. Abb. 21/3; 22/10) besonders gefördert erscheint¹⁾.

Der Vergleichsstamm von *Streptosporangium roseum* (Abb. 19/1-4) zeigt ähnliche Kolonieformen (vgl. auch die Abbildungen und Angaben bei COUCH, 1955 a); erstaunlich gute Übereinstimmung besteht zwischen den einzelnen Parallelkulturen (vgl. Abb. 19/1 und 4 sowie 19/2 und 19/3).

Von den übrigen Vergleichsstämmen weist nur *Streptosporangium viridialbum* (Abb. 19/5) einen annähernd gleichartigen Koloniehhabitus auf. Allerdings handelt es sich bei der abgebildeten Kolonie um eine über drei Monate alte Kultur. Die jüngere, mit den *S. - roseum* - Kolonien der Tafeln 21 und 22 ungefähr gleichaltrige Kolonie (Abb. 19/6) desselben Stammes sieht deutlich anders aus. Sie ist ebenso wie die Kolonien von *S. vulgare* (Abb. 19/8,9) und *S. album* (Abb. 19/7), mit denen sie auch in der bräunlich gelben Farbe übereinstimmt, kleiner, kompakter und frei von Luftmycel. Auch bei *S. album* hat die mehr als drei Monate alte Kolonie (Abb. 19/11) einen erheblich größeren Durchmesser als die nach etwa sieben Wochen fotografierte (Abb. 19/7) und weicht ferner durch die Ausbildung eines schmalen, gefranzten Randsaumes von dieser ab, während sich die älteren Kolonien von *S. roseum* (Abb. 19/4) und *S. vulgare* (Abb. 19/9) nur wenig von den entsprechenden jüngeren unterscheiden.

Streptosporangium indianensis (Abb. 19/10) wächst beträchtlich rascher als alle anderen Vergleichsstämme und eigenen Isolate. Kennzeichnend für die Kolonie sind außerdem die geschlossene Bedeckung mit Luftmycel, die unregelmäßige Runzelung der Oberfläche, die Braunfärbung des Nährbodens infolge Melaninbildung und ein strenger Erdgeruch. Auf Grund dieser Merk-

1) Stamm SS 6 weicht hiervon durch die Ausbildung einer geschlossenen, größtenteils rosa gefärbten Luftmyceldecke ab (s. Abb. 40/8).

male besteht kaum eine Verwechslungsmöglichkeit mit *S . r o s e u m* oder den Stämmen anderer *S t r e p t o - s p o r a n g i u m* - Arten.

Ähnlich charakteristisch wie auf CPC-Agar, in der Erscheinungsform jedoch ganz anders, sind die Kolonien von *S t r e p t o s p o r a n g i u m r o s e u m* auf Hefeflocken-Hefe-Nährboden. Im typischen Fall haben sie das Aussehen der auf den Farbbildern 9 und 10 der Tafeln 40 dargestellten Kolonien (SS 19 und SS 34). Sie erreichen einen Durchmesser von meist mehr als 20 mm und bleiben wie auf CPC-Agar ziemlich flach.

Das rötlich braune bis rotbraune Substratmycel wird im allgemeinen fast vollständig von gut entwickeltem, rosa, schmutzig rosa oder bräunlich rosa gefärbtem Luftmycel bedeckt. Auffällig ist die unregelmäßig netzige Felderung des Luftmycels (s. insbesondere Abb. 40/9), die sich auf die gesamte Oberfläche der Kolonie erstrecken kann: Areolen, die kein oder nur schwach entwickeltes Luftmycel aufweisen, sind von kräftigen Luftmycelstegen umgeben. Die Ursache für dieses Wabenmuster dürfte in der Absonderung von Guttationstropfen zu sehen sein. Im Randbereich der Kolonien ist das Luftmycel häufig nur dünn und lückig ausgebildet.

Der Kolonierand selbst zeigt starke Unregelmäßigkeit. Einzelne Abschnitte breiten sich mitunter fächerförmig weit in den Agar aus, während andere Randpartien wesentlich geringeres Flächenwachstum aufweisen.

Alle genannten Merkmale finden sich auch bei den Kolonien des Vergleichsstammes von *S t r e p t o s p o r a n g i u m r o s e u m*. Ähnliche Eigenschaften - insbesondere die fächerförmigen Randabschnitte und die Wabenstruktur des Luftmycels - kommen unter den übrigen Vergleichsstämmen nur noch bei *S . v u l g a r e* vor.

2.4.7.6. Merkmale anderer Isolate

Die Einordnung und Charakterisierung der anderen Isolate, bei denen die typischen Eigenschaften von *Streptosporangium amethystogenes*, *S. rubrum* oder *S. roseum* nicht zu beobachten sind, erweist sich als wesentlich schwieriger. Abbildungen von Agarkolonien (CPC) solcher Stämme aus der Isolierungsgruppe SS 1 bis SS 69 sind - getrennt nach der Luftmycelfarbe der betreffenden Isolate - auf den Tafeln 23 (Luftmycel rosa) und 24 (Luftmycel weiß bis gelblich weiß) zusammengestellt.

Mehrere Fotos beider Tafeln zeigen das charakteristische Aussehen von *Streptosporangium-roseum*-Kolonien, insbesondere die Abbildungen 23/13 (SS 14), 23/14 (SS 28), 23/15 (SS 63), 24/6 (SS 47) und 24/9 (SS 58), aber auch 24/1 (SS 23), 24/5 (SS 46) und 24/7 (SS 48). Vor allem bei den Stämmen SS 14, 23 und 63 stimmt auch die Form der Kolonien auf Haferflocken-Hefe-Agar mit der typischen Koloniemorphologie von *Streptosporangium roseum* überein. Diese Isolate gehören vermutlich zur Art *Streptosporangium roseum* oder in deren unmittelbare Nachbarschaft, auch wenn der charakteristische substratlösliche Farbstoff nicht in Erscheinung tritt und das Luftmycel nicht rosa gefärbt ist.

Untereinander sehr ähnlich sind die Kolonien von SS 21, 45, 49 und 51 (Abb. 23/2-5). Übereinstimmung besteht in der geringen Größe (ca. 6 mm Durchmesser), in der bräunlich gelben Farbe und kompakten Beschaffenheit des Substratmycels sowie im Fehlen von Luftmycel. Bedeutend größer, aber sonst gleich, ist die Kolonie von SS 20 (Abb. 23/1 und 40/4). Auf Haferflocken-Hefe-Agar bilden diese Stämme rotbraunes oder braunrotes bis orangerotes Substratmycel (Abb. 40/5,6) und einen gelblichen bis gelben substratlöslichen Farbstoff. Die gleichen Eigenschaften zeigt eine Reihe weiterer, nicht abgebildeter *Streptosporangium*-Isolate.

Orangene Färbung des Substratmycel und ein gelber löslicher Farbstoff sind für *Streptosporangium vulgare* beschrieben (NONOMURA u. OHARA, 1960). Der Vergleichsstamm entspricht auf CPC-Agar weitgehend den genannten Isolaten, insbesondere dem Stamm SS 20 (Abb. 23/1) und außerdem auch dem Stamm SS 24 (Abb. 23/9), hat aber auf Haferflocken-Hefe-Agar braunes Mycel. Ohne die Berücksichtigung zusätzlicher, nicht nur auf das Erscheinungsbild der Kolonien bezogener Merkmale läßt sich hier keine sichere Aussage über die Artenzugehörigkeit dieser Isolate machen.

Mehr noch trifft dies für die übrigen Stämme zu, deren meist blaß bräunliche bis braune Kolonien keine deutlichen Anhaltspunkte dafür bieten, ob die betreffenden Isolate einer der beschriebenen Arten zugeordnet werden können oder von diesen verschieden sind.

2.5. Physiologische Merkmale

2.5.1. Vorbemerkungen

Bei einer Reihe von Arten haben physiologische Eigenschaften als kennzeichnende Merkmale erhebliche Bedeutung. Ihre Kenntnis ist vor allem zur Unterscheidung einiger von NONOMURA u. OHARA (1960, 1969 b) beschriebener Vertreter der Gattung *Streptosporangium* wichtig. Beispielsweise werden für *Streptosporangium vulgare* die Nutzung von Rhamnose und Inosit sowie ein unter 42°C liegendes Temperaturmaximum als Hauptunterschiede gegenüber *S. pseudovulgare* angegeben (NONOMURA u. OHARA, 1969 b).

Die von den genannten Autoren verwendeten physiologischen Merkmale sind: das Verhalten bei bestimmten Temperaturen, der Bedarf an Vitaminen, die Fähigkeit zur Nitratreduktion, zur Gelatineverflüssigung, zur Milchpeptonisierung, zur Nutzung bestimmter C-Quellen und zur Bildung melanoi-

der Farbstoffe. Auch die bereits bei den Kulturmerkmalen besprochene Farbstoff- und Jodininbildung gehören streng genommen zu den physiologischen Leistungen. Da sie aber ohne besondere Testreaktionen erkennbar sind und das Aussehen der Kulturen wesentlich mitbestimmen, schien ihre Behandlung gemeinsam mit den morphologischen Koloniemerkmalen am sinnvollsten.

Im folgenden sollen - nach einer tabellarischen Zusammenfassung der physiologischen Merkmale beschriebener *Streptosporangium*-Arten - die physiologischen Eigenschaften einer größeren Zahl von Isolaten verschiedener Gattungen mitgeteilt werden. Besondere Berücksichtigung finden dabei die *Streptosporangium*-Stämme der Isolierungsgruppe SS 1 bis SS 69. Bei den Keratin-Isolaten erstrecken sich die Untersuchungen hauptsächlich auf die Stämme SK 1 bis SK 31, bei den Pollen-Isolaten in erster Linie auf die Stämme der SA- und SB-Gruppe.

2.5.2. Eigenschaften beschriebener Arten

Eine Zusammenstellung der wichtigsten physiologischen Merkmale der einzelnen *Streptosporangium*-Arten und Varietäten gibt Tabelle 10. Die Angaben sind, soweit nicht anders vermerkt, den Diagnosen entnommen.

COUCH (1950, 1963), der den morphologischen Merkmalen besondere Bedeutung beimißt, teilt für die von ihm beschriebenen Arten der Gattungen *Actinoplanaes*, *Amorphosporangium*, *Ampullariella* und *Spirillospora* nur wenige physiologische Eigenschaften mit. Ausführlichere Angaben über diese Merkmale bei den *Actinoplanaes*-Arten (ohne *A. armeniacus*) finden sich jedoch in Form einer tabellarischen Übersicht bei THIEMANN u. Mitarb. (1969).

Die Beschreibung der Gattung *Pilimelia* (KANE, 1966) enthält außer einem Hinweis auf Melaninbildung nur Daten zur Mikromorphologie und zur Erscheinungsform der Kolonien. Über die physiologischen Merkmale von *Pilimelia* - Stämmen ist bisher nicht berichtet worden.

Tabelle 10												
Streptosporangium	Melanin	NO ₂ ⁻ aus NO ₃ ⁻	Gelatine- Verflüssigung	Milch- Peptonisierung	Vitaminbedarf	Wachstum bei 42° C	Stärke- Abbau	Rhamnose- Abbau	Inosit- Abbau	Cellulose- Abbau	Sporangien- Größe (μ)	Sporen- Größe (μ)
albidum	-	+	-	+	-		-	+	+	-	10 - 30	1,0-1,4 x 1,4-1,6
album	-	-	+	+	+		-	++			6 - 8	1,0-1,3 x 1,5-1,9
album var. thermophilum	-	-	+	+		+	-				10 - 15	0,5 - 1
amethystogenes	- +*	+	+	- +*	+	- *	+	- +*	+		6 - 8 7 - 10*	1,0-1,3 x 1,5-1,9 1,4 x 1,6*
amethystogenes var. nonreducens	-	-	+	+			+				6 - 8	
indianesis	+	-							+			
longisporum	-	-	+	+		-	+				7 - 13	0,6-0,9 x 1,5-3,5
nondiastaticum	-	+	+	+	+	+	-	-	-		10 - 15	1,3 x 1,5

pseudovulgare	-	+	+	+	+	+	+	+	-		7 - 10	1,2 x 1,5
roseum	-**	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7 - 19 5 - 9**	1,8 - 2,0 1,0-1,3 x 1,5-1,9**
rubrum	-	(+)	(+)	(+)	+						6 - 14	0,8 - 1,4 0,6 - 1,1 fix.
sibiricum	+				-				+	+	20 - 26 x 25-30	0,8 - 1,2
viridialbum	-	-	+	+	-				-	-*	6 - 8	1,0-1,3 x 1,5-1,9
viridialbum var. reducens	-	+	-	+	+				-	+	7 - 9	1,3 x 1,6
viridogriseum	-	+	+	+	-				(+)	(+)	20 - 48	0,2 - 0,4
viridogriseum var. kofuense	-	-	+	+	-				+	+	12 - 20	0,4 x 1,0
vulgare	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	6 - 8 7 - 10*	1,0-1,2 x 1,5-1,9 1,0 x 1,3*

* NONOMURA u. OHARA, 1969; ** NONOMURA u. OHARA, 1960; (+) schwach positiv

2.5.3. Melaninbildung

Wie bei anderen Gruppen der Actinomyceten gibt es auch unter den Actinoplanaceen sogenannte chromogene Stämme, welche die Fähigkeit haben, gewisse Substrate braun bis schwarz zu verfärben.

Gewöhnlich treten solche melanoiden Verfärbungen in proteinreichen, tyrosinhaltigen Nährmedien auf und werden dann allgemein auf die Wirkung des Enzyms Tyrosinase zurückgeführt (vgl. WAKSMAN, 1967, S. 176, 189), das die Bildung von Melanin aus Tyrosin einleitet. Häufig zeigen aber auch tyrosinfreie organische Substrate wie etwa Gelatine - mitunter sogar rein synthetische Nährböden - eine Braun- oder Schwarzfärbung, die sich nicht mit der "Tyrosinase-Reaktion" erklären läßt. In Kulturen von Stämmen der Gattung *Streptomyces* wurde als zweites Enzym, das die Bildung melanoider Farbstoffe katalysieren kann, Laccase nachgewiesen (s. ZENOVA, 1965, 1968), die allein oder zusammen mit Tyrosinase vorkommt (vgl. KRASSILNIKOV, 1970).

Bei den Streptomyceten gilt die Chromogenität von jeher als wichtiges taxonomisches Merkmal (vgl. WAKSMAN, Vol. II, 1961, S. 71), dessen Brauchbarkeit zur Klassifizierung dieser Gruppe auch in neueren Untersuchungen (s. SHIRLING u. GOTTLIEB, 1970) bestätigt wurde. Für die Differenzierung der bisher beschriebenen sporangienbildenden Arten ist das Merkmal allerdings bis jetzt ohne größere Bedeutung.

Verwenden läßt es sich zur Abgrenzung von *Streptosporangium sibiricum* und *S. indianensis* gegen alle übrigen Arten dieser Gattung, die keine melanoiden Pigmente bilden (s. Schlüssel, S. 126).

Innerhalb der Gattung *Actinoplanes* ist *A. philippinensis* durch die Braunfärbung von Kartoffel-Glucose-Agar und von Czapek-Agar, der Glycerin anstelle von Rohrzucker enthält, charakterisiert

(COUCH, 1950). Eine Prüfung meiner *A c t i n o -*
p l a n e s - Isolate der SA- und SB-Isolierungsreihe so-
wie eines Teiles der SE-Stämme (SE 1 bis SE 78) ergab,
daß nur wenige Isolate (SA 20, SB 1, SB 18, SE 3, 11, 12,
13, 61 und 71) Kartoffel-Glucose-Agar schwach braun bis
braun färben. SE 26 produziert einen schwarzbraunen Far-
stoff. Dem Typustamm ähnlich, aber weniger intensiv, ist
nur das Pigment von SB 1. Der Stamm unterscheidet sich je-
doch von *A . p h i l i p p i n e n s i s* durch un-
regelmäßige und kleinere Sporangien (etwa 6 - 10 μ) so-
wie durch Melaninbildung auf Tyrosinagar.

Zur speziellen Prüfung auf Bildung melanoider Pigmente
wurden folgende Medien verwendet:

a) Tyrosin-Agar (GORDON u. S. ITH, 1933). Der Nährboden
enthält neben größtenteils kristallinem Tyrosin Pepton
und Fleischextrakt.

Die meisten Pollenisolate und *S t r e p t o s p o -*
r a n g i u m - Stämme zeigen auf diesem Substrat
deutliches bis gutes, aber häufig kein optimales Wachs-
tum. Die Kulturen der Keratinisolate entwickeln sich
z. T. recht gut; mitunter wächst jedoch das Impfmycel
nicht oder nur zögernd an. Trotz mehrfachen Beimpfens
konnte bei einem Teil der *P i l i m e l i a* - Stämme
kein Wachstum erreicht werden.

Die Auswertung ist nicht in allen Fällen ganz leicht,
da außer den eindeutig melanin-negativen, nicht oder
zack verfarbten und den melanin-positiven dunkelbraun-
en bis schwarzen Kulturen auch solche mit dazwischen-
liegenden Brauntönen vorkommen.

b) Pepton-Eisen-Fleischextrakt-Agar = Medium Nr. 6 des IOP
(THRESNER u. DANGA, 1958). Der Nährboden dient eigent-
lich dem Nachweis der Schwefelwasserstoffbildung. Es
hat sich aber gezeigt, daß die Dunkelfärbung des Me-
diums offenbar durch die Melaninreaktion verursacht
wird oder mit dieser verknüpft ist und nicht allein auf
die H_2S -Produktion zurückgeht (SHINLING u. GOTTLIEB,
1970).

Die getesteten *Streptosporangium*- und *Pilimelia*-Stämme wachsen auf diesem Substrat meist mäßig bis gut.

- c) Gelatine-Medium, 12 %ig, ohne Zusatz sonstiger Nährstoffe oder Salze (s. Manual of Microbiological Methods, 1957). Die autoklavierte Lösung wurde in senkrecht stehenden Röhrchen zum Erstarren gebracht und durch Auflegen von wenig Substratmycel (ca. 1 mm³) beimpft. *Streptosporangium*-Stämme und Pollen-isolate zeigten auf diesem Medium deutliches, aber meist nur mäßiges Wachstum; bei den *Pilimelia*-Stämmen ließ sich hingegen höchstens geringfügiges Wachstum feststellen.

Protokolliert wurden die Gelatine-Kulturen nach etwa fünf-wöchiger Bebrütung bei 20°C. Für die Agar-Kulturen betrug die Inkubationszeit ca. sechs bis acht Wochen; die Bebrütungstemperatur lag hier mit ungefähr 25°C etwas höher.

Es ergaben sich für die einzelnen Gattungen bzw. Isolierungsgruppen folgende Resultate:

1) Streptosporangium Die 68 getesteten Isolate (SS 1 - 69 außer SS 44) bilden auf keinem der drei Medien substratverfärbende dunkelbraune oder schwarze Farbstoffe¹⁾. Von den fünf mituntersuchten Vergleichsstämmen verhalten sich vier ebenso. Der einzige melaninbildende Stamm ist KCC A-0053 = *S. indianesis*; Tyrosin-Agar wird dunkelbraun, Medium Nr. 6 schwarzbraun und Gelatine braun gefärbt.

Es scheint, daß fehlende Melaninbildung ein Charakteristikum typischer *Streptosporangium*-Stämme und eindeutig zur Gattung gehörender Arten ist. *S. indianesis* weicht bereits morphologisch durch seine "zusammenfließenden Sporangien" (s. S. 15) und zahlreichen gekrümmten Sporenketten (s. Abb. 33/5,7,9,10) stark von den übrigen beschriebenen Arten ab, und *S. sibiricum*, die zweite melaninbildende Art,

1) Dies bedeutet gleichzeitig, daß auch kein H₂S produziert wird.

zeichnet sich durch das für *Streptosporangium* - Stämme ungewöhnliche Fehlen von Luftmycel aus, so daß hier - unter Einbeziehung anderer in der Beschreibung genannter Merkmale - eine Verwandtschaft mit *Actinoplanes* denkbar wäre.

Auf den anderen zum Kultivieren verwendeten Nährböden werden von den *Streptosporangium* - Kolonien ebenfalls keine melanoiden Farbstoffe gebildet. Schwach braune Verfärbungen kommen jedoch mitunter vor. Milchagar-Kulturen zeigen z. B. bei manchen Stämmen (z. B. 45, 49, 51) nach mehrwöchiger Bebrütung eine goldbraune, aber nie dunkelbraune oder braunschwarze Färbung. Die Bräunung von Haferflocken-Hefe-Agar durch *S. rubrum* - Stämme wurde bereits erwähnt (s. S. 158); ähnlich verhalten sich die *S. amethystogenes* - Isolate (insbesondere SS 17 und SS 59).

2) Pilimelia Aus dieser Gattung wurden 67 Isolate, darunter 22 der neuen Art *P. columellifera*, auf Tyrosin-Agar geimpft. Davon wuchsen 19 Stämme (8 *P. columellifera*) nicht an. Von den insgesamt 48 auf diesem Medium kultivierbaren Isolaten bilden 22 (7 *P. columellifera*) einen dunkelbraunen bis schwarzen Farbstoff. Bei 18 weiteren Stämmen ist der Nährboden weniger intensiv, aber deutlich dunkler gefärbt als bei der unbeimpften Kontrolle. Die Vergleichskulturen von *Pilimelia anulata* und *P. terrevasa* sind beide melaninpositiv.

Auf Medium Nr. 6 wurden 23 Isolate (8 *P. columellifera*) getestet. Nur zwei (SK 7, SK 22) rufen eine Schwarzfärbung hervor.

Die negativen Ergebnisse auf Gelatine sind ohne Aussagewert, da die Isolate auf diesem Medium schlecht wachsen.

Eine Reihe von Stämmen verursacht bei den gewöhnlich zum Kultivieren verwendeten Milchnährböden braune Verfärbungen. Wirklich frei von nennenswerter Farbstoffbildung auf allen benutzten Medien sind nur 13 der 67 geprüften

Isolate, also etwa ein Fünftel der Stämme.

Da einerseits beide Vergleichsstämme Melanin bilden und andererseits die Gruppen morphologisch gleicher Isolate sowohl chromogene als auch nichtchromogene Stämme enthalten, dürfte der Fähigkeit zur Produktion melanoider Pigmente bei der Gattung *Piliella* keine artentrennende Bedeutung zukommen.

3) Pollenisolate (*Actinoplanes*, *Ampullariella*) Über die Hälfte (98) der auf Tyrosin-Agar kultivierten 188 Isolate - größtenteils Stämme der Gattung *Actinoplanes*; 15 Stämme *Ampullariella regularis*, 7 Stämme *Ampullariella digitata* - färbt diesen Nährboden dunkelbraun oder schwarz.

Von den 15 Vertretern der Art *Ampullariella regularis* bilden zehn Melanin. Darunter befinden sich die acht Isolate, die auf Czapek-Agar einen bräunlich roten substratlöslichen Farbstoff produzieren (s. S. 120).

Sechs der sieben geprüften Stämme von *Ampullariella digitata* sind melaninpositiv. SA 28 verfärbt Tyrosin-Nährboden nicht, bildet aber auf Milch- und CPC-Agar einen oliv getönten dunklen Farbstoff.

80 Pollenisolate wurden auch auf Gelatine getestet. Bei Verwendung dieses Mediums liegt die Zahl der chromogenen Stämme höher. 46 Isolate verfärben Gelatine, während nur 39 der 80 Stämme auf Tyrosin-Agar deutliche Melaninbildung zeigen. 27 Isolate produzieren auf beiden Medien melanoider Pigmente.

Möglicherweise übt bei den Gelatinekulturen die etwas niedrigere Bebrütungstemperatur einen fördernden Einfluß auf die Farbstoffbildung aus. Die bekannte Erscheinung, daß die Pigmentproduktion bei höherer Temperatur nachläßt und bei 37°C größtenteils unterbleibt (vgl. WAKSMAN, Vol. I, 1959, S. 203), läßt sich auch bei chromogenen

Stämmen der Actinoplanaceen beobachten. Deutlich zeigt sich diese Temperaturabhängigkeit beispielsweise bei den Stämmen SB 12 (*A c t i n o p l a n e s*), SE 21 und SE 39 (beide *A m p u l l a r i e l l a r e g u l a r i s*), die Pepton-Czapek-Agar bei 32°C noch braun bis dunkelbraun färben, bei 37°C aber nur mehr eine schwache Verfärbung des Nährbodens hervorrufen und bei dieser Temperatur dann auch orangefarbenes Substratmycel anstelle von dunkelbraunem aufweisen.

Auf Czapek-Agar als synthetischem Medium bilden die meisten Isolate keine melanoiden Farbstoffe. Braunfärbung dieses Substrates kommt jedoch bei den Stämmen SE 6 (*A c t i n o p l a n e s*), SE 53 und 83 (*A m p u l l a r i e l l a c a m p a n u l a t a*) sowie SE 77 (*A c t i n o p l a n e s*) vor.

Isolate, die auf keinem der genannten Testmedien oder der übrigen zur Kultur verwendeten Nährböden, insbesondere CPC-, Hefe-Stärke- und Milch-Agar, braune oder schwarze Pigmente produzieren, sind in der Minderzahl und machen nur etwa ein Viertel der Stämme aus.

2.5.4. Gelatineverflüssigung

Entsprechenden Angaben in der Literatur (NONOMURA u. OHARA, 1960, 1969 b) ist zu entnehmen, daß sich die einzelnen Arten der Actinoplanaceen gegenüber Gelatine nicht einheitlich verhalten. Einige lassen die Konsistenz dieses Mediums völlig oder größtenteils unverändert. Die überwiegende Mehrzahl der Arten und Stämme ist jedoch zur Bildung proteolytischer Enzyme befähigt, in deren Diffusionsbereich die Gelatine mehr oder weniger rasch verflüssigt wird.

Ein zahlenmäßig ähnliches Bild ergab sich bei der Prüfung von eigenen Isolaten der Gattungen *A c t i n o p l a n e s* , *A m p u l l a r i e l l a* , *S t r e p t o s p o r a n g i u m* und *P i l i m e l i a* .

Medium und Züchtungsbedingungen waren die gleichen wie im

Abschnitt "Melaninbildung" unter (c) angegeben.

1) Streptosporangium Von den 68 getesteten Isolaten verflüssigen lediglich drei die Gelatine nicht: SS 1, SS 6 und SS 17. Der Stamm SS 33 ruft nur geringe Verflüssigung hervor. Die Isolate SS 1 und SS 17 gehören beide zur Art *Streptosporangium amethystogenes*. Erstaunlich ist, daß sich der dritte Stamm dieser Art, SS 59, anders verhält. NONOMURA u. OHARA (1960, 1969 b) fanden aber ebenfalls unterschiedliches Verhalten bei verschiedenen Stämmen von *S. amethystogenes*. SS 6 ist in seinen wichtigsten Kulturmerkmalen *Streptosporangium roseum* sehr ähnlich. Alle übrigen geprüften Isolate (25) dieser Art sind jedoch Gelatineverflüssiger.

Nach POTKHINA (1965) verflüssigten die drei Stämme, die der Artbeschreibung von *Streptosporangium rubrum* zugrundeliegen, innerhalb von 30 Tagen Gelatine nicht. Bei längerer Inkubationszeit verursachte einer der Stämme mäßige Verflüssigung. Die Kulturen meiner *S. - rubrum* - Isolate - getestet wurden 11 Stämme - zeigen demgegenüber breite Verflüssigungszonen.

Alle fünf mituntersuchten Vergleichsstämme reagieren positiv; das Ausmaß der Verflüssigung ist allerdings unterschiedlich. Sehr schmale Zonen finden sich bei *Streptosporangium album* und *S. viridialbum*, wesentlich breitere bei *S. roseum*, *S. vulgare* und *S. indiansis*. Für *S. vulgare* geben NONOMURA u. OHARA hingegen mäßige oder schwache (1960) und fehlende (1969 b) Verflüssigung an.

Aus der Zusammenfassung positiver und negativer Stämme in ein und derselben Art (s. Tabelle 10, S. 146 f.) wird deutlich, daß die genannten Autoren diesem Merkmal keine artendifferenzierende Bedeutung beimessen. Würde man dem Verhalten gegenüber Gelatine derartiges Gewicht geben,

dann müßte man Stämme, die wie SS 17 und SS 59 in vielen Merkmalen übereinstimmen, verschiedenen Arten zuordnen, was kaum sinnvoll erscheinen dürfte.

2) Pilimelia 19 Isolate wurden geprüft. Von diesen verflüssigen 11 das Gelatine-Medium. Die acht negativen Stämme gehören ebenso wie die positiven teils zu *Pilimelia terevasa*, teils zu *P. columellifera*.

Den negativen Befunden kommt allerdings nur bedingte Gültigkeit zu, da die *Pilimelia*-Stämme auf dem reinen Gelatine-Medium sehr schlecht wachsen.

2) Pollenisolate Nur drei (SA 21, SB 16, SB 22) der 80 getesteten Isolate der Gattungen *Actinoplanes* und *Ampullariella* verflüssigen Gelatine nicht. Bei drei weiteren Stämmen zeigte eine der jeweils zwei Parallelkulturen keine (SB 10, SB 17) oder nur sehr geringe (SB 45) Verflüssigung. Der hohe Anteil verflüssigender Stämme steht im Einklang mit den Befunden von COUCH (1950, 1955 a).

Etwas überraschend ist das negative Ergebnis, das JONES u. BRADLEY (1964) für *Actinoplanes philippinensis* mitteilen. Derselbe Stamm (ATCC 12427) wurde von mir als Vergleichsstamm mituntersucht; beide Parallelkulturen verflüssigen das Medium (s. auch COUCH, 1950; THIEMANN et al., 1969).

Keine Veränderung der Gelatine trotz deutlichen Wachstums konnte ich bei den Vergleichskulturen von *Amorphosporangium auranticolor* (KCC A-0038) feststellen.

2.5.5. Milchpeptonisierung

Milchnährböden stellen für viele Actinoplanaceen ein ausgezeichnetes Substrat dar. Das gute Wachstum auf diesen Medien ist häufig mit einem Abbau des Caseins verbunden, der sich oft schon nach kurzer Bebrütungszeit am Transparenzwerden des Nährbodens erkennen läßt. Diese sogenannte

Peptonisierung des Caseins geschieht ähnlich wie die Gelatineverflüssigung unter der Einwirkung extrazellulärer Proteasen.

Geschwindigkeit und Ausmaß des Caseinabbaus können je nach der enzymatischen Aktivität bei den einzelnen Kulturen sehr unterschiedlich sein; bei manchen Stämmen zeigt sich nur geringe oder gar keine Peptonisierung der Milch.

Das Verhalten der beschriebenen Arten gegenüber Casein wird im allgemeinen von den Autoren in den Diagnosen bei den physiologischen Charakteristika mit angegeben. Aus diesen Befunden wie auch aus den Beobachtungen an den eigenen Isolaten geht hervor, daß offenbar die überwiegende Mehrzahl der Actinoplanaceen zur Caseinhydrolyse befähigt ist. Nur wenige der getesteten Stämme peptonisierten Milch nicht oder kaum, und bei einigen dieser Isolate ergaben zu einem späteren Zeitpunkt wiederholte Versuche einen weitgehenden Abbau des Caseins. Auch Parallelkulturen wiesen z. T. größere Unterschiede im Peptonisierungsgrad auf.

Die mitunter nicht unerheblichen Schwankungen im Caseinabbau lassen besondere Vorsicht bei der Verwendung dieses Merkmals geboten erscheinen. Ein beobachtetes Ausbleiben der Caseinhydrolyse muß sich in mehrfach wiederholten Versuchen als wirklich konstant erwiesen haben, bevor diese Eigenschaft als differenzierendes Merkmal benutzt werden kann.

Zur Prüfung der Isolate auf Caseinabbau diente Magermilch-Agar nach GORDON u. SMITH (1955). Bei den *Pilimia*-Stämmen ließen sich außerdem die Ergebnisse verwenden, die beim Kultivieren dieser Organismen auf verdünnten Milchmedien erhalten wurden. Die Bebrütung erfolgte bei Zimmertemperatur. Protokolliert wurde nach einer Inkubationszeit von zunächst zwei Wochen und dann noch einmal nach sieben Wochen bis zwei Monaten.

1) Streptosporangium Alle 68 geprüften Isolate peptonisieren Casein, ebenso die fünf Vergleichsstämme.

Streptosporangium viridialbum wird von NONOMURA u. OHARA (1960) als nichtpeptonisierend bezeichnet. Derselbe Stamm (S-20 = KCC A-0027) zeigte bei mir Caseinhydrolyse.

2) Pilimelia Die meisten der 67 getesteten Isolate bauen Casein rasch ab. Nur wenige verursachen lediglich sehr geringe Peptonisierung. SK 7 läßt erst auf sehr verdünntem Milchnährboden (Ca/20-Ho) eine schwache Caseinhydrolyse erkennen. Unbedeutend ist der Abbau ferner bei den Stämmen SK 8, 45, 47, 48, 51 und 66, die mit Ausnahme von SK 48 und SK 51 zur neuen Art *Pilimelia columellifera* gehören.

Die Vergleichsstämme der beiden beschriebenen Arten peptonisieren Casein.

3) Pollenisolate Von den 158 geprüften Isolaten zeigten nur drei (SB 10, SB 22, SE 7) bei mehrfachen Tests keinen Caseinabbau. Gering ist die Peptonisierung bei SA 24, SA 25 und SB 17. Die Stämme SE 2, 9, 23, 51 und 54 ließen beim ersten Kultivieren auf Milchagar keine Caseinhydrolyse erkennen. Eine spätere Wiederholung ergab für SE 9, 23 und 54 vollständige, für SE 2 und SE 51 weitgehende Peptonisierung.

Die mituntersuchten Vergleichskulturen der Gattungen *Actinoplanes*, *Ampullariella* und *Amorphosporangium* hydrolysieren Casein, auch der Typusstamm von *Actinoplanes armeniacus* (ATCC 15676), der als nichtpeptonisierend beschrieben wird (KALAKUTSKII u. KUZNETSOV, 1964).

2.5.6. Tyrosin-Auflösung

Beim Kultivieren von Actinomyceten auf Nährböden, die Tyrosinkristalle enthalten, läßt sich häufig eine Auflösung dieser Kristalle beobachten. Sie ist oft auf die unmittelbare Umgebung der Kolonien beschränkt, reicht aber mitunter auch weiter und führt nicht selten zu einer vollständigen

digen Klärung des Mediums.

Angaben zur Tyrosinauflösung durch Actinoplanaceen finden sich vor allem in den Artbeschreibungen von COUCH (1963), fehlen aber in den Diagnosen der meisten *Streptosporangium*-Arten.

THIEMANN u. Mitarb. (1969) sehen in der Tyrosinhydrolyse ein wichtiges taxonomisches Merkmal, während COUCH diese Eigenschaft nicht zur Unterscheidung von Arten heranzieht, sondern im Gegenteil auch Stämme, die in der Tyrosinauflösung stark voneinander abweichen, aber morphologisch gut übereinstimmen, als Angehörige der gleichen Art betrachtet. So sind beispielsweise in der Art *Ampullariella campanulata* Isolate zusammengefaßt, für die COUCH (1963) "no utilization to complete clearance beneath and close to cultures" angibt.

Es scheint, daß sich nicht nur morphologisch identische Stämme in der Fähigkeit zur Tyrosinauflösung unterscheiden können, sondern daß dieses Merkmal in manchen Fällen auch bei ein und demselben Stamm größeren Schwankungen unterliegt. COUCH (1963) beschreibt für den Typusstamm von *Ampullariella digitata* weitgehende Auflösung des Tyrosins unter den Kolonien; derselbe Stamm ließ bei mir keine Klärung des Nährbodens erkennen. In gleicher Weise differierten z. B. auch die Parallelkulturen der *Pilimelia*-Isolate SK 23 und SK 25.

Die Prüfung auf Tyrosinhydrolyse wurde an denselben Kulturen vorgenommen, die zur Feststellung der Melaninbildung dienten; auch die Bebrütungszeit war die gleiche. Um den Tyrosin-Agar für diesen Test verwenden zu können, mußte beim Abfüllen auf gleichmäßige Verteilung der Kristalle geachtet werden.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

1) Streptosporangium Von den fünf Vergleichsstämmen löst nur *Streptosporangium viridialbum* die Kristalle nicht auf. Unter den 68 ge-

prüften eigenen Isolaten zeigen lediglich zwölf keine Tyrosinhydrolyse. Darunter befinden sich zwei der drei getesteten *S. - a m e t h y s t o g e n e s* - Stämme (SS 1 und SS 17).

Erstaunlich ist auch, daß sich die in anderen Merkmalen nahezu identischen Isolate SS 45, 49 und 51 nicht gleich verhalten. SS 45 löst die Kristalle nicht, während die beiden anderen Stämme den Agar klären.

Übereinstimmung besteht bei allen Isolaten der Arten *S t r e p t o s p o r a n g i u m r o s e u m* (26) und *S. r u b r u m* (11), die ohne Ausnahme zumindest in Mycelnähe die Tyrosinkristalle auflösen.

2) Pilimelia Bei dieser Gattung überwiegen die nichtauflösenden Isolate. Nur 14 von 48 lassen eine Klärung des Agars erkennen. Eine Sonderung in die morphologisch unterscheidbaren Gruppen *P i l i m e l i a c o l u m e l l i f e r a* und *P. t e r e v a s a* auf Grund dieses Merkmals ist nicht möglich.

Die Vergleichsstämme von *P i l i m e l i a a n u l a t a* und *P. t e r e v a s a* lösen beide die Tyrosinkristalle auf.

3) Pollenisolate Unter den insgesamt 188 getesteten Isolaten befinden sich 83, die im Nährboden Klärungszonen verursachen. Von den 15 Stämmen der Art *A m p u l l a r i e l l a r e g u l a r i s* rufen 14 keine Auflösung hervor; nur SB 2 zeigt schwache Tyrosinhydrolyse. Dieser Befund entspricht den Ergebnissen von COUCH (1963). Die sieben Isolate der Art *A m p u l l a r i e l l a d i g i t a t a* besitzen die Fähigkeit zur Tyrosinauflösung.

2.5.7. Bildung von Nitrit aus Nitrat

Unter den beschriebenen Vertretern der Actinoplanaceen befinden sich sowohl Arten, die wie viele andere Actinomyceten Nitrat zu Nitrit reduzieren können, als auch sol-

che, denen diese Eigenschaft fehlt (s. Tabelle 10, S. 146 f.). Einige Stämme der Gattung *Streptosporangium*, die sich vor allem hierin von bekannten Arten unterscheiden, sonst aber weitgehend mit diesen übereinstimmen, sind als Varietäten der betreffenden Arten beschrieben worden (PRAUSER u. ECKARDT, 1967; NONOMURA u. OHARA, 1969 b); Abweichungen in nur diesem Merkmal wird hier also kein artentrennendes Gewicht gegeben.

Über die Brauchbarkeit der Eigenschaft als taxonomisches Merkmal bestehen unterschiedliche Ansichten. Bei einer Reihe von Streptomyceten, die im Rahmen des ISP auch auf Nitritbildung aus Nitrat getestet wurden, hat sich das Merkmal als nicht konstant erwiesen (SHIRLING u. GOTTLIEB, 1970). Die von mir geprüften Actinoplanaceen-Stämme zeigten sowohl in den Parallelkulturen als auch bei einem später wiederholten Test gute Übereinstimmung.

Folgende Nährböden wurden verwendet:

- a) Medium für Nitratreduktion (WAKSHAN, Vol.II, 1961) mit Zusatz von 1 % Agar.

Es diente zur Prüfung der Pollenisolate (SA- und SB-Stämme).

- b) Grundmedium wie unter (a) mit Zusatz von 1,5 % Agar und 0,1 % Hefeextrakt.

Es wurde zum Testen der *Streptosporangium*-Stämme benutzt.

- c) Milchagar (GORDON u. SMITH, 1955), halbkonzentriert (Agar 1 %), mit Zusatz von 0,1 % KNO_3 .

Dieses Medium war für die Prüfung der Keratin-Isolate gut geeignet.

Die Kulturen wurden sechs bis acht Wochen bei Zimmertemperatur bebrütet. Bei der Gattung *Streptosporangium* war die Inkubationszeit für den zweiten Test kürzer (1 Monat).

Der Nachweis von Nitrit erfolgte mit α -Naphthylamin und Sulfanilsäure (s. MÜLLER u. MELCHINGER, 1964, S. 135); bei negativer Reaktion wurde durch Zugabe von Zinkstaub

auf noch vorhandenes Nitrat geprüft (s. Manual of Microbiological Methods, 1957, S. 154).

1) Streptosporangium Von den 37 getesteten Isolaten (SS 1 bis SS 88) zeigten 41 eine starke, 10 nur sehr geringe (das Reagenz färbt sich allmählich schwach rot) und 36 gar keine Nitritbildung. Durch Zugabe von Zinkstaub zu den Kulturen mit negativer oder schwach positiver Testreaktion ließ sich nachweisen, daß in allen Fällen noch unverändertes Nitrat vorhanden war. Beide Tests und die Parallelkulturen ergaben gut übereinstimmende Resultate.

Starke Nitritbildung liegt bei allen *Streptosporangium-roseum*-Isolaten (29) vor, nicht reduzierend sind die Isolate von *Streptosporangium rubrum* (11) und *S. amethystogenes* (3). Die Stämme SS 1, SS 17 und SS 59 der Art *S. amethystogenes* gehören damit zur Varietät *nonreducens*.

Unter den Vergleichsstämmen weisen *Streptosporangium roseum* und *S. indianensis* starke, *S. viridialbum* und *S. vulgare* nur geringe (laut Diagnose beide nicht reduzierend) und *S. album* keine Nitritbildung auf. *Streptosporangium indianensis* wird in der Beschreibung als nichtreduzierend bezeichnet (GUPTA, 1965).

2) Pilimelia Geprüft wurden 29 Stämme (SK 1 bis SK 29). Zwischen den jeweils drei Kulturen eines Isolates bestand gute Übereinstimmung. 16 Stämme zeigten starke, 9 geringe und 4 keine Nitritbildung.

Unter den stark reduzierenden Stämmen befinden sich diejenigen Isolate von *Pilimelia columellifera*, die goldgelbes bis gelborangenes Mycel bilden (SK 1 bis SK 6). In den Kulturen der ebenfalls zu dieser Art gehörenden Stämme mit farblosen bis blaß bräunlichen Kolonien (SK 7 und SK 8) läßt sich kein Nitrit nachweisen.

3) Pollenisolate 77 Stämme der SA- und SB-Isolierungsgruppen - davon zwei Stämme *Ampullariella regularis* und sieben Stämme *A. digitata* - wurden getestet. Von diesen reduzieren 46 Nitrat zu Nitrit, zehn ergeben nur eine schwach positive Nachweisreaktion und 21 bilden kein Nitrit.

Zu den reduzierenden Stämmen gehören beide Isolate der Art *Ampullariella regularis* (SB 2, SB 5) und fünf der sieben *A. - digitata* - Isolate (SA 24, 25, 28; SB 30, 31).

2.5.8. Wachstumsverhalten bei verschiedenen Temperaturen

Mit nur einer Ausnahme (*Streptosporangium album* var. *thermophilum* MANACHINI et al., 1965) sind alle bisher beschriebenen Actinoplanaceen mesophile Formen, die sich zwischen 20 und 30°C gut kultivieren lassen, bei einer Erhöhung der Bebrütungstemperatur aber je nach Stamm und Art mehr oder weniger bald ihr Wachstum einstellen. Für viele liegt das Temperaturmaximum niedriger als 40°C. Einige Arten der Gattung *Streptosporangium* wachsen noch bei höheren Temperaturen (s. Tabelle 10, S. 146 f.). NONOMURA u. OHARA (1969 b) verwenden diese Eigenschaft als Bestimmungsmerkmal zur Abgrenzung von *Streptosporangium pseudovulgare* und *S. nondiastaticum* (Wachstum bei 42°C) gegen *S. amethystogenes*, *S. roseum* und *S. vulgare*.

Bei einer größeren Zahl eigener Isolate, die zur Ermittlung des wachstumsbegrenzenden Temperaturbereichs bei 32, 37 und 42°C, z. T. auch bei 45 und 50°C bebrütet wurden, ergaben sich folgende Resultate:

1) Streptosporangium Geprüft wurden die Isolate SS 1 bis SS 69 und die Vergleichsstämme. Als Nährboden diente Hafferflocken-Hefe-Agar.

Bei 32°C gedeihen alle Stämme gut, bei 37°C zeigen die meisten Isolate und auch die Vergleichsstämme noch mäßi-

ges bis gutes Wachstum. 18 Stämme wachsen bei dieser Temperatur nicht mehr. Zu diesen gehören neun der elf getesteten *Streptosporangium-rubrum*-Isolate; die Kulturen der beiden anderen Stämme dieser Art (SS 18, SS 27) zeigten nur geringes bis mäßiges Wachstum. Die drei Stämme von *S. amethystogenes* (SS 1, 17, 59) wachsen dagegen bei 37°C noch gut, bilden aber keine Jodininkristalle mehr. Von den 29 geprüften Isolaten der Art *Streptosporangium-roseum* lassen sich drei (SS 39, 41, 43) bei 37°C nicht mehr kultivieren.

Bei 42°C ist für alle Isolate und vier der fünf Vergleichsstämme das Temperaturmaximum überschritten. Nur *Streptosporangium-indianensis* (KCC A-0053) wächst noch in diesem Bereich.

Damit läßt sich ausschließen - sofern die Fähigkeit zum Wachstum bei 42°C ein artentrennendes Merkmal ist - daß sich unter den Isolaten Vertreter der Arten *Streptosporangium-nondiastaticum*, *S. pseudovulgare* und *S. viridogriseum* befinden.

2) Pilimelia 29 Isolate (SK 1 bis SK 29) sowie die beiden Vergleichsstämme von *Pilimelia-anulata* und *P. terevasa* wurden getestet. Als Nährboden schien verdünnter Milchagar mit Zusatz von Mineralsalzen (Ca/5-K) gut geeignet, da dieses Medium ein sicheres Anwachsen des Impfmateriails gestattet.

Bei 32°C wachsen alle Stämme noch gut, bei 37°C läßt aber bereits mehr als die Hälfte der Isolate (SK 1 bis SK 16) kein Wachstum mehr erkennen. Unter diesen befinden sich die acht Stämme der neuen Art *Pilimelia-columellifera* (SK 1 bis SK 8) sowie die Mehrzahl der Isolate mit blaß gelbem-bis blaß bräunlich gelbem Mycel (s. S. 122)einschließlich der beiden Vergleichsstämme.

Die Isolate SK 17 bis SK 29, die vorwiegend gelbes bis

goldgelbes Mycel haben (SK 20 bis SK 29) wachsen bei 37°C und auch noch - allerdings z. T. deutlich schwächer - bei 42°C; bei 50°C findet kein Wachstum mehr statt.

3) Pollenisolate Von den zahlreichen Pollenisolaten wurde nur eine kleine Auswahl von 30 Stämmen geprüft (Pepton-Czapek-Agar, Haferflocken-Hefe-Agar). Diese Stämme wachsen bei 42°C nicht mehr. Einige zeigen auch schon bei 37°C kein Wachstum mehr (SB 2, SB 5, SB 46).

2.5.9. Vitaminbedarf

VAN BRUNNEN u. WENT (1957) konnten nach Zugabe von Hefeextrakt zum Nährmedium ein besseres Wachstum ihrer *Streptosporangium*-Isolate beobachten. Dieser erste Hinweis auf Vitaminbedarf wurde durch die Befunde von NONOMURA u. OHARA (1960, 1969 a, b) bestätigt. Nach ihren Ergebnissen benötigen fast alle untersuchten Stämme Thiamin und z. T. auch Biotin.

Demgegenüber heben die Autoren von *Streptosporangium viridogriseum* (OKUDA et al., 1966), *S. albidum* (FURUKAI et al., 1968) und *S. sibiricum* (GAUZE et al., 1969) hervor, daß diese Arten auch gut auf vitaminfreien synthetischen Medien zu wachsen vermögen (s. Tabelle 10, S. 146 f.). Es scheint sich hier also eine Möglichkeit zur Differenzierung zwischen den von NONOMURA u. OHARA beschriebenen und den letztgenannten Arten anzubieten.

Zur Prüfung meiner Isolate verwendete ich als vitaminfreies synthetisches Medium Czapek-Agar, der anstelle von 30 g Rohrzucker 15 g Stärke enthielt. In einem Parallelversuch wurden dieselben Stämme - SS 1 bis SS 71, neun weitere *Streptosporangium*-Isolate (*S. rubrum*), fünf *Streptosporangium*-Vergleichsstämme - auf das entsprechende Medium mit Zusatz von 0,1 % Hefeextrakt geimpft.

Dieser Nährboden gestattete allen Isolaten ein mehr oder weniger gutes Wachstum, während auf dem entsprechenden vitaminfreien Medium die meisten Stämme nur sehr geringes bis geringes Wachstum zeigten. Auf beiden Substraten gleich gut wuchsen die *Streptosporangium*-Isolate SS 2, 15, 16, 18, 25, 27, 29, 30, 32, 37 und 42 sowie der Vergleichsstamm von *Streptosporangium indianensis*.

SS 31, ein Stamm mit braunem Substratmycel und schwach rosarotem Luftmycel (HaH), entwickelte sich auf dem vitaminfreien Substrat zwar wesentlich besser als alle restlichen Isolate, wuchs aber dennoch deutlich schwächer als auf dem Medium mit Hefeextrakt.

In der Beschreibung von *Streptosporangium rubrum* finden sich keine direkten Angaben zum Vitaminbedarf. Es wird aber darauf hingewiesen, daß die Stämme auf den verwendeten synthetischen Medien (u. a. Czapek-Agar) viel schlechter wachsen als auf Haferflocken- und Kartoffel-Glucose-Agar (POTEKHINA, 1965). Daher war das gleich gute Wachstum meiner *S. - rubrum*-Isolate zunächst überraschend. Neun weitere Stämme derselben Art (SS 79, 93, 95, 96, 100, 103, 106, 119, 120), die im Gegensatz zu den anderen unmittelbar nach dem Isolieren getestet wurden, während sich die erstgenannten zu diesem Zeitpunkt bereits über drei Jahre in Kultur befanden, verhielten sich jedoch etwas anders. Sie zeigten auf dem Medium mit Hefeextraktzusatz ein deutlich besseres Wachstum als auf dem vitaminfreien Substrat, wuchsen auf diesem aber auch mäßig bis gut.

Bei zwei Stämmen ergaben sich Unterschiede in der Färbung des Substratmycels. SS 96 und SS 120 waren auf dem Medium ohne Hefeextrakt braunrot bzw. rot gefärbt. Die typische weinrote Farbe zeigte sich erst auf Czapek-Stärke-Agar mit Hefeextrakt-Zusatz.

Auf die Schwierigkeiten beim Kultivieren der Keratin-Isolate und die besondere Eignung komplexer Medien wurde be-

reits hingewiesen (s. S. 91, 120 ff.). Inwieweit dafür eine Auxotrophie für Vitamine oder andere Stoffe verantwortlich ist, bleibt noch zu untersuchen.

Die Pollenisolate lassen sich im allgemeinen ohne Zugabe von Vitaminen kultivieren. Czapek-Agar ohne Zusatz von Hefeextrakt stellt für die meisten ein gut geeignetes Substrat dar (s. auch COUCH, 1963).

2.5.10. Kochsalz-Verträglichkeit

Manche Actinomyceten besitzen, wie viele Mikroorganismen, die Fähigkeit, trotz hoher Salzkonzentrationen des Nährmediums noch gut zu wachsen (s. WAKSMAN, Vol. I, 1959, S. 146). Die tolerierbaren Maximalkonzentrationen liegen für die einzelnen Stämme oft weit auseinander (s. STAPP, 1953).

TRESNER u. Mitarb. (1968) sehen auf Grund von Untersuchungen zur NaCl-Verträglichkeit, die sie an etwa 1300 Stämmen (= 313 Arten) der Gattung *Streptomyces* durchführten, in der unterschiedlichen Toleranz gegenüber Kochsalz ein geeignetes Kriterium zur Artendifferenzierung. Für Actinoplanaceen liegen bisher keine derartigen Untersuchungen vor.

Zur Ermittlung der Kochsalzverträglichkeit wurden 73 *Streptosporangium* - Stämme - die Isolate SS 1 bis SS 69 und fünf Vergleichsstämme - auf Haferflocken-Hefe-Agar mit Zusatz von 2, 3, 4, 7, 10 und 13 % NaCl geimpft. Bei einem Teil der Pollenisolate wurde die Kultur auf Haferflocken-Hefe-Agar mit 4 % NaCl versucht.

Alle *Streptosporangium* - Stämme wuchsen bei einer Kochsalzkonzentration von 2 %, SS 24 entwickelte sich allerdings nur schwach.

Auf dem Nährboden mit 3 % NaCl ließen sich nur noch 50 der 73 Stämme kultivieren. Unter diesen befanden sich die fünf Vergleichsstämme und alle *Streptosporangium-roseum* - Isolate außer SS 6. Ohne erkennbares Wachstum blieben die Abimpfungen von

Streptosporangium amethystogenes (SS 1, 17, 59), *S. longisporum* (SS 66, 67) und den Isolaten SS 6, 7, 24, 26, 31, 35, 36, 38, 50 und 58. Von den elf Stämmen der Art *Streptosporangium rubrum* zeigten nur drei geringes (SS 16) bis mäßiges (SS 30, 37) Wachstum.

Bei Erhöhung der NaCl-Konzentration auf 4 % verringerte sich die Zahl der toleranten Stämme erheblich. Lediglich bei den Isolaten SS 20, 21, 45, 49 und 51, die untereinander auch in anderen Merkmalen ähnlich sind (s. S. 142) und dem Vergleichsstamm von *Streptosporangium indianensis* ließ sich noch Wachstum feststellen.

7 % NaCl wurden von keinem der Isolate mehr vertragen, ermöglichten aber der Vergleichskultur von *Streptosporangium indianensis* noch gutes Wachstum. Dieser Stamm, der außerdem in zahlreichen anderen Eigenschaften von den übrigen Vertretern der Gattung abweicht, wuchs bei Zusatz von 10 % NaCl noch gering bis mäßig; bei 13 % NaCl fand kein Wachstum mehr statt.

Ein Vergleich dieser Befunde mit den Ergebnissen von TRESNER u. Mitarb. (1968) deutet darauf hin, daß *Streptosporangium* - Stämme wesentlich empfindlicher gegenüber höheren Kochsalzkonzentrationen sind als *Streptomyces* - Stämme. Von den untersuchten *Streptomyces* - Arten vertrugen mehr als ein Fünftel noch eine NaCl-Konzentration von 10 %; bei einem Gehalt von 7 % NaCl wuchsen über 70 %, und bei 4 % NaCl ließen sich etwa 98 % der Arten kultivieren.

Die Pollenisolate scheinen ähnlich empfindlich wie die *Streptosporangium* - Stämme zu sein. Für alle 52 getesteten Isolate (SB 1 bis SB 54 außer SB 13 und SB 26) war bei einer Konzentration von 4 % NaCl das Maximum bereits überschritten.

2.5.11. Stärkeabbau

Die Mehrzahl der *Streptosporangium*-Stämme und Pollenisolate läßt sich auf stärkehaltigen Nährböden gut kultivieren. Das deutet - obwohl in solchen Medien Stärke häufig nicht als alleinige Kohlenstoffquelle vorliegt - auf eine meist vorhandene Verwertbarkeit dieses Substrates hin. Einige der beschriebenen *Streptosporangium*-Arten sind jedoch zum Stärkeabbau nicht befähigt: *Streptosporangium albidum*, *S. album* und *S. nondiastaticum* (s. Tabelle 10, S. 146 f.).

Das Abbauvermögen meiner *Streptosporangium*-Isolate und der fünf Vergleichsstämme bestimmte ich nach der üblichen Methode. Petrischalen (6 cm ϕ) mit Stärkeagar (0,2 % lösliche Stärke) wurden in der Mitte punktförmig beimpft, sechs Tage bei Zimmertemperatur bebrütet und anschließend zum Nachweis noch unveränderter Stärke mit wenig Jodlösung (LUGOLsche Lösung) übergossen. Nach kurzer Einwirkungszeit wurde die Jodlösung abgespült. Blaufärbung des Agars infolge positiver Jod-Stärke-Reaktion zeigte an, in welchen Bereichen noch Stärke vorhanden war.

Bei manchen Kulturen ließen sich nach knapp einwöchigem Wachstum nur am Plattenrand noch Spuren von Stärke feststellen. Mehrere Isolate - die Stämme SS 1, 6, 9, 14, 23, 26 und 63 sowie der Vergleichsstamm von *Streptosporangium album* - wiesen jedoch nach diesem Zeitraum noch keine Abbauzonen auf.

Eine einfache Möglichkeit zur Überprüfung der Resultate ohne Verwendung von Jodlösung ergibt sich beim Kultivieren auf Czapek-Stärke-Agar (CzSt) oder Hefe-Stärke-Agar. Diese Nährböden werden bald nach dem Abfüllen durch ausfallende Stärke leicht getrübt. Stärkeabbauende Organismen klären den Agar nach einiger Zeit.

Von den obengenannten Stämmen zeigten auch nach siebenwö-

chiger Kultur auf Czapek-Stärke-Agar die Isolate SS 6, 9, 26 und 63 sowie der Vergleichsstamm von *Streptosporangium album* noch keine Stärkehydrolyse.

SS 26 stimmt auch in anderen Merkmalen recht gut mit *Streptosporangium album* überein (s. S. 182), so daß der Stamm als Vertreter dieser Art angesehen werden kann.

Die Isolate SS 6, 9 und 63 haben schwach rosa bis rosa gefärbtes Luftmycel. Sie gleichen darin der Art *Streptosporangium nondiastaticum*, unterscheiden sich aber durch ein niedrigeres Temperaturmaximum (kein Wachstum bei 42°C) und zeigen in ihren Kulturmerkmalen starke Anklänge an die Stämme von *S. roseum* (s. S. 142 sowie Abb. 21/6 und 23/15), die aber sonst sämtlich zur Stärkehydrolyse befähigt sind.

Für *Streptosporangium indianensis* findet sich in der Literatur keine Angabe zur Stärkehydrolyse. Der mir zur Verfügung stehende Stamm baut Stärke ab.

Bei meinen *Streptosporangium-rubrum*-Isolaten ergaben sich Abweichungen gegenüber den in der Beschreibung mitgeteilten Befunden. POTEKHINA (1965) bezeichnet die Stärkehydrolyse als sehr langsam und unvollständig. Die Kolonien der von mir geprüften eigenen Isolate (11) wiesen bereits nach sechstägiger Bebrütung einen breiten stärkefreien Hof auf.

2.5.12. Celluloseabbau

Bald nach der Beschreibung der Gattung *Streptosporangium* (COUCH, 1955 a) berichteten VAN BRUMMELEN u. WENT (1957) über die Isolierung von 17 *Streptosporangium*-Stämmen mit Hilfe von Cellulose-Agar. Alle diese Isolate, die wahrscheinlich sechs verschiedenen Arten angehörten, erwiesen sich auch in Reinkultur als Celluloseersetzer. Die Vermutung lag

nahe, daß möglicherweise die Fähigkeit zum Celluloseabbau eine bei der Gattung *Streptosporangium* allgemein verbreitete Eigenschaft sein könnte.

In der Folgezeit wurden jedoch auch Arten beschrieben, die Cellulose nicht zu nutzen vermögen: *Streptosporangium viridogriseum* (OKUDA et al., 1966) und *S. albidum* (FURUMAI et al., 1968). JONES u. BRADLEY (1964) testeten den Stamm 27b der Sammlung COUCH¹⁾; sie konnten ebenfalls keine Cellulose-zersetzung nachweisen. Die Arbeiten von NONOMURA u. OHARA (1960, 1969 b) enthalten keine Angaben zum Celluloseabbau der dort beschriebenen Arten. Aus der vorliegenden Literatur läßt sich somit nur ein sehr lückenhaftes und uneinheitliches Bild über die Verwertbarkeit dieses Substrates durch die einzelnen Vertreter der Gattung gewinnen.

Von meinen Isolaten habe ich die Stämme SS 1 bis SS 69, SB 2, SB 10, SE 3 und SE 50 auf Befähigung zum Celluloseabbau geprüft. Sieben Vergleichsstämme wurden mituntersucht.

Für den Test verwendete ich zweierlei Cellulosemedien:

a) Cellulosepulver "Avicel" für Säulenchromatographie (MERCK)

b) Filterpapierstückchen von etwa 4 cm² Größe.

Die Sterilisation erfolgte mit Propylenoxyd (s. S. 44). Als Grundmedium diente Mineralsalzagar (Medium Nr. 9 C, SHIRLING u. GOTTLIEB, 1966), dem wegen des besseren Wachstums der meisten *Streptosporangium*-Stämme (s. S. 164 f.) 0,1 % Hefeextrakt zugesetzt wurde.

Zunächst wurden die genannten *Streptosporangium*-Stämme auf Agar mit Cellulosepulver ("Avicel") geimpft. Bei der ersten Kontrolle nach sechs- bis siebenwöchiger Bebrütung ließ sich bei keinem Stamm Cellulose-

1) Bei Stamm 27b COUCH = ATCC 12428 handelt es sich laut Katalog der American Type Culture Collection (8. Aufl., 1968) um den Typusstamm von *Streptosporangium roseum*.

abbau feststellen. Alle Kulturen zeigten nur geringes Wachstum wie auf Mineralsalzagar ohne Cellulosezusatz. Die nochmalige Überprüfung nach sieben bis acht Monaten führte bei den meisten Stämmen zum gleichen Ergebnis. Lediglich bei SS 28 war eine deutliche Klärungszone im Agar festzustellen.

In einem zweiten Versuch wurden Filterpapierstückchen mit den obengenannten Stämmen in der Mitte punktförmig beimpft. Die Papierstückchen befanden sich auf der Oberfläche von Mineralsalzagar mit Hefezusatz in kleinen Kulturschalen von 4 cm Durchmesser. Nach dreimonatiger Bebrütung wurden die Kulturen bei 70°C rasch getrocknet; die Abbauzonen erscheinen auf dem trockenen Papier als transparente Bezirke und lassen sich auch bei geringerem Zersetzungsgrad der Cellulose leicht feststellen.

41 von 74 Stämmen mit erkennbarem Wachstum lösten die Cellulose teilweise auf. Der Zersetzungsgrad war bei keinem der *Streptosporangium*-Stämme größer als bei dem mitgetesteten Typusstamm von *Actinoplanes philippinensis*, meist sogar wesentlich geringer.

Unter den geprüften *Streptosporangium*-Vergleichsstämmen zeigte *S. viridialbum* deutlichen, *S. vulgare* geringen Abbau. *Streptosporangium roseum*, *S. album* und *S. indianensis* griffen hingegen die Cellulose nicht an.

Zu den cellulosezersetzenden eigenen Isolaten gehören die drei Stämme von *Streptosporangium amethystogenes* (SS 1, 17, 59). Vier Vertreter dieser Art befanden sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch unter den von VAN BRUMMELEN u. WENT geprüften Stämmen. Die in anderen Merkmalen weitgehend identischen Isolate SS 20, 21, 45 und 49 stimmen auch in der Befähigung zum Celluloseabbau überein. Von den Isolaten der Arten *Streptosporangium roseum* und

S. rubrum läßt jeweils nur ein Teil Celluloseabbau erkennen. Da sich die sonst sehr ähnlichen Stämme in dieser Eigenschaft nicht einheitlich verhalten, dürfte der taxonomische Wert dieses Merkmals - wenigstens bei *Streptosporangium roseum* und *S. rubrum* - ziemlich gering sein.

Neben den nichtauflösenden Isolaten der letztgenannten Arten zersetzen die beiden Stämme von *Streptosporangium longisporum* (SS 66, 67), der *S. - album* - Stamm (SS 26) sowie eine Reihe weiterer, nicht eindeutig einzuordnender Isolate (s. Tab. 13 und 14, S. 178 f.) Cellulose nicht.

Aus alledem ergibt sich, daß die Fähigkeit zum Celluloseabbau kein durchgängiges Merkmal der Gattung *Streptosporangium* ist.

Von den vier mitgetesteten Pollenisolaten zersetzten drei das Filterpapier etwa gleich stark wie *Actinoplanes philippinensis* (ATCC 12427): SB 2 (*Ampullariella regularis*), SE 3 (*Actinoplanes penicillatus*) und SE 50 (*Actinoplanes*). Bei SB 10 konnte ich keinen Celluloseabbau feststellen. Auch der Typusstamm von *Spirillospora albidula* zeigte keine Nutzung dieses Substrates.

2.5.13. Verwertbarkeit anderer Kohlenstoffquellen

Den Abschnitten über den Stärke- und Celluloseabbau seien noch einige Angaben zur Nutzung verschiedener anderer Kohlenstoffquellen hinzugefügt. Geprüft wurden lediglich einige Pollenisolate der Gattungen *Actinoplanes* und *Ampullariella* sowie acht Vergleichsstämme. Da in der Literatur aber hierzu nur wenige Befunde vorliegen (s. THIEHMANN et al., 1969), sollen die Ergebnisse kurz mitgeteilt werden.

Der Test wurde nach der Vorschrift von SHIRLING u. GOTTLIEB (1966) durchgeführt. Die Sterilisation der Kohlen-

stoffquellen erfolgte durch Filtration, im Falle von Inosit mit Hilfe von Propylenoxyd (s. S. 44). Nach siebenwöchiger Bebrütung bei 26°C wurden die Schrägagarkulturen protokolliert. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 11 und 12 zusammengefaßt.

Glucose, Fructose, Saccharose, Arabinose, Xylose und Mannit werden von allen untersuchten *Actinoplanes* - Stämmen genutzt (s. Tabelle 11). Raffinose und Inosit sind nur für einen Teil der Stämme verwertbar. Zum gleichen Ergebnis kamen auch THIEMANN u. Mitarb. (1969) bei der Untersuchung von vier *Actinoplanes* - Stämmen. Abweichend von den Befunden dieser Autoren konnte ich beim Kultivieren von *Actinoplanes philippinensis* (ATCC 12427) auf Raffinose keine Verwertung dieses Substrates nachweisen.

Für einen Teil der *Ampullariella* - Stämme ist auch Mannit als Kohlenstoffquelle nicht geeignet (s. Tabelle 12). Morphologisch identische Stämme der Art *Ampullariella regularis* (z. B. SB 2 und SE 21) verhalten sich diesem Substrat gegenüber nicht gleich.

Bei einigen Stämmen, insbesondere bei SE 39, blieb auf manchen Medien in beiden Parallelkulturen das Wachstum vollständig aus, so daß über die Verwertbarkeit des betreffenden Substrates in diesen Fällen keine zuverlässige Aussage möglich ist. Normalerweise zeigten nämlich die Stämme auch auf den Nährböden, deren Kohlenstoffquellen sie nicht zu nutzen vermochten, ebenso wie auf nährstoff-freiem Mineralsalzagar deutliches Wachstum. Die Kolonien blieben allerdings flach und farblos, erstreckten sich aber mit schleierartigem, lockerem Mycel oft mehrere Millimeter tief in den Agar.

Tabelle 11: Verwertbarkeit verschiedener C-Quellen durch Stämme der Gattung Actinoplanes

C-Quelle	Ams. aur. KCC A-0038	Acp. phil. ATCC 12427	Acp. utah. COUCH 260	Acp. arm. ATCC 15676	SB 11	A c t i n o p l a n e s					
						SB 12	SB 18	SB 27	SB 46	SE 50	SE 55
L-Arabinose	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-Fructose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-Glucose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
i-Inosit	+	++	-	+	++	-	++	++	++	-	-
D-Mannit	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Raffinose	+	-	-	+	++	-	-	-	-	+	+
Saccharose	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-Xylose	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++

++ Wachstum wie auf Mineralsalzagar mit Glucose oder besser

+ Wachstum besser als auf reinem Mineralsalzagar, aber geringer als auf Mineralsalzagar mit Glucose

- Wachstum wie auf reinem Mineralsalzagar oder geringer

Tabelle 12: Verwertbarkeit verschiedener C-Quellen durch Stämme der Gattung *Ampullariella*

C-Quelle	Amp. dig. COUCH 33	Amp. lob. ATCC 15350	Amp. camp. C.B.S. 190.64	Amp. reg. C.B.S. 193.64	Ampullariella regularis			
					SB 2	SB 5	SE 21	SE 39
L-Arabinose	/	++	++	++	++	++	++	/
D-Fructose	++	++	++	++	++	/	++	++
D-Glucose	++	++	++	++	++	++	++	/
i-Inosit	+	-	-	-	-	/	-	/
D-Mannit	-	++	++	-	++	++	-	/
Raffinose	+	+	-	-	-	/	-	/
Saccharose	++	++	++	++	++	++	++	/
D-Xylose	+	++	++	++	++	++	++	++

++ Wachstum wie auf Mineralsalzagar mit Glucose oder besser

+ Wachstum besser als auf reinem Mineralsalzagar,
aber geringer als auf Mineralsalzagar mit Glucose

- Wachstum wie auf reinem Mineralsalzagar oder geringer

/ kein Wachstum

2.5.14. Zusammenfassung der physiologischen Eigenschaften der untersuchten Streptosporangium-Stämme

Im folgenden sollen die bisher nur einzeln besprochenen physiologischen Merkmale der getesteten *Streptosporangium*-Stämme zusammengefaßt wiedergegeben werden, und zwar zunächst für die auf Grund ihrer Kulturmerkmale als Vertreter der Arten *Streptosporangium amethystogenes*, *S. rubrum* und *S. roseum* identifizierten Isolate, sodann an Hand von zwei Tabellen für die übrigen Isolate der Isolierungsgruppe SS 1 bis SS 69.

a) *S. amethystogenes* Das wichtigste gemeinsame Merkmal der betreffenden Stämme ist die Fähigkeit zur Bildung von Jodinin-Kristallen (s. S. 133). Von den fünf zu dieser Art zählenden Isolaten (SS 1, 17, 59, 97 und 136) wurden drei (SS 1, 17, 59) genauer untersucht. Sie weisen folgenden physiologischen Eigenschaften auf:

Melaninbildung	-	Wachstum bei 42°C	-
Gelatineverflüssigung	- (SS 1, 17)	Vitaminbedarf	+
	+ (SS 59)	Wachstum bei 2 % NaCl	+
Milchpeptonisierung	+	Wachstum bei 3 % NaCl	-
Tyrosinauflösung	+	Stärkeabbau	+
Nitrit aus Nitrat	-	Celluloseabbau	+
Wachstum bei 37°C	+		

b) *S. rubrum* Die auffälligste gemeinsame Eigenschaft aller Isolate dieser Art ist die weinrote Färbung des Substratmycels auf Haferflocken-Hefe-Agar und anderen Nährmedien (s. S. 134 ff.). 25 Stämme wurden isoliert, 11 davon eingehender auf ihre physiologischen Leistungen geprüft.

Melaninbildung	-	Milchpeptonisierung	+
Gelatineverflüssigung	+	Tyrosinauflösung	+
Wachstum bei 37°C	-	Nitrit aus Nitrat	-
	+ (SS 13, SS 27)		
Wachstum bei 42°C	-		
Vitaminbedarf	-		
Wachstum bei 2 % NaCl	+		

Wachstum bei 3 % NaCl -
+ (SS 16, 30, 37)
Wachstum bei 4 % NaCl -
Stärkeabbau +
Celluloseabbau +
- (SS 18, 37, 42)

c) S. roseum Kennzeichnendes Kulturmerkmal der hier eingeordneten Isolate ist der purpurfarbene bis rotbraune substratlösliche Farbstoff, der auf Haferflocken-Hefe-Agar und einigen anderen Medien gebildet wird (s. S. 138 f.). 29 der 47 isolierten Stämme dieser Art wurden näher untersucht. Ihre physiologischen Eigenschaften lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Melaninbildung -
Gelatineverflüssigung + (SS 6: -)
Milchpeptonisierung +
Tyrosinauflösung +
Nitrit aus Nitrat ++
Wachstum bei 37°C +
- (SS 39, 41, 43)
Wachstum bei 42°C -
Vitaminbedarf +
Wachstum bei 2 % NaCl +
Wachstum bei 3 % NaCl + (SS 6: -)
Wachstum bei 4 % NaCl -
Stärkeabbau + (SS 6, SS 9: -)
Celluloseabbau + und -

Die meisten der 29 Isolate stimmen in ihren physiologischen Merkmalen gut überein. Abweichungen in mehreren Eigenschaften kommen lediglich bei Stamm SS 6 vor. Unähnlich ist das Verhalten der Isolate gegenüber Cellulose; sie wird von nur etwa der Hälfte der Stämme zersetzt.

d) Andersartige Stämme Die physiologischen Merkmale derjenigen Isolate, die sich nicht mit der gleichen Sicherheit und Eindeutigkeit wie die soeben abgehandelten Stämme einer der beschriebenen Arten zuordnen lassen, sind - ergänzt durch einige Angaben zum Aussehen der Kulturen und zur Sporangiengröße - in den Tabellen 13 (Luftmycel nicht rosa) und 14 (Luftmycel rosa) zusammengestellt.

Tabelle 13: Eigenschaften der S t r e p t o s p o r a n g i u m - Isolate unsicherer Artenzugehörigkeit.
SS-Stämme mit anders als rosa gefärbtem Luftmycel.

	23	26	33	36	46	47	48	50	58	64
Melaninbildung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatine-Verflüssigung	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+
Milch-Peptonisierung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tyrosin-Auflösung	+	-	-	-	+	+	+	(+)	+	-
Nitrit aus Nitrat	(+)	(+)	++	(+)	++	++	++	-	++	-
Wachstum bei 37°C	+	-	(+)	-	+	+	+	+	(+)	+
Wachstum bei 42°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum auf CzSt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 3 % NaCl	+	-	+	-	+	+	(+)	-	-	+
Wachstum bei 4 % NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stärke-Abbau	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Cellulose-Abbau	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Luftmycel-Färbung	glgr	w	c-glgr	c	sw-c	sw-c	sw-c	w	glgr	w
Substratmycel (HaH)	br	blbr	br	blgr	hbr	hbr	hbr	br	br	blbr
Substr.-Verfärbg. (HaH)	blbr	-	-	blbrg	-	-	-	blbrg	blbr	-
Sporang. (Ø in µ) (HaH)	4-9	4-7	4-9 (-13)	4-8	4-10 (-13)	4-10 (-13)	4-10 (-13)	4-10	4-7	4-10 (-13)

Abkürzungen:

blbr	blaß braun
blbrg	blaß braungelb
blg	blaß gelb
blgbr	blaß gelbbraun
blr	blaß rosa
br	braun
c	cremefarben
glgr	gelblich grau
hbr	hellbraun
r	rosa
rbr	rotbraun
sr	schmutzig rosa
sw	schmutzig weiß
w	weiß
CzSt	Czapek-Stärke-Agar, vitaminfrei
HaH	Haferflocken-Hefe-Agar

Tabelle 14: Eigenschaften der Streptosporangium - Isolate unsicherer Artzugehörigkeit.
SS-Stämme mit rosa gefärbtem Luftmycel.

	7	14	24	28	31	35	38	63	20	21	45	49	51
Melaninbildung	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatine-Verflüssigung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Milch-Peptonisierung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tyrosin-Auflösung	+	+	-	-	(+)	-	+	+	-	-	-	+	+
Nitrit aus Nitrat	-	++	-	(+)	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-
Wachstum bei 37°C	+	+	+	-	-	-	-	(+)	+	+	+	+	+
Wachstum bei 42°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum auf CzSt	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Wachstum bei 3 % NaCl	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 4 % NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Stärke-Abbau	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Cellulose-Abbau	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Luftmycel-Färbung	r	sr	r	r	w,blr	r	sr	sr	r	r	r	r	r
Substratmycel (HaH)	br	br	br	brrot	br	br	hbr	hbr	br, rbr	rbr	brrot	brrot	brrot
Substr.-Verfärbg. (HaH)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	blg	blg	blg	blg
Sporang. (ø in µ) (HaH)	4-12 (-17)	4-10	4-11	4-8	4-9	4-14	4-8	4-11	4-10	4-13	4-11	4-10	4-11

2.6. Versuch einer Zuordnung der bisher nicht eingeordneten Streptosporangium-Isolate

Die in den Tabellen 13 und 14 aufgeführten Stämme lassen sich morphologisch von den übrigen nicht abtrennen, unterscheiden sich aber in den Kulturmerkmalen von den leicht zu identifizierenden Arten *Streptosporangium amethystogenes*, *S. roseum* und *S. rubrum*. Untereinander sind sie z. T. recht verschieden.

Hier soll nun unter Hinbeziehung der physiologischen Eigenschaften versucht werden, diese Stämme - soweit möglich - den beschriebenen Arten zuzuordnen. Die dabei zu berücksichtigenden Merkmale sind größtenteils in den Tabellen 9 (S. 130 f.), 10 (S. 146 f.), 13 (S. 178) und 14 (S. 179) enthalten.

Bei der Besprechung der Kulturmerkmale (s. S. 142) wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Kolonien der Isolate SS 14, 23, 28, 46, 47, 48, 58 und 63 auf CPC-Agar (s. Tafeln 23 und 24) in ihrer Form den Kolonien typischer *Streptosporangium-roseum*-Isolate gleichen, obwohl bei keinem dieser Stämme der für *S. roseum* charakteristische substratlösliche Farbstoff vorkommt. Von den genannten Isolaten stimmen vier (SS 14, 46, 47, 48) auch in ihren physiologischen Merkmalen mit *S. roseum* überein. Die Abweichungen sind z. T. nur unbedeutend: kein Wachstum mehr bei 37°C (SS 28) oder bei einer Kochsalzkonzentration von 3 % (SS 58), kein Stärkeabbau (SS 63), nur geringe Nitritbildung aus Nitrat (SS 23, 28). Am schwerwiegendsten dürften die Unterschiede im letztgenannten Merkmal sein, da alle typischen *Streptosporangium-roseum*-Isolate starke Nitratreduktion aufweisen.

Gibt man der Kolonieform geringeres taxonomisches Gewicht, so ist eine Einordnung der Stämme in die Art *Streptosporangium roseum* nicht mehr möglich. Für die drei Isolate mit rosa gefärbtem Luftmycel

(SS 14, 28 und 63) bliebe dann eine Verwandtschaft mit *Streptosporangium nondiastaticum*, *S. pseudovulgare* und *S. vulgare* in Erwägung zu ziehen. Da die beiden erstgenannten Arten nach NONOMURA u. OHARA (1969 b) u. a. dadurch gekennzeichnet sind, daß sie bei 42°C noch zu wachsen vermögen, das Temperaturmaximum der drei Isolate aber niedriger liegt, kann eine Zugehörigkeit zu *S. nondiastaticum* oder *S. pseudovulgare* - folgt man den Autoren - ausgeschlossen werden. SS 14 und SS 28 unterscheiden sich darüberhinaus durch Stärkeabbau von *S. nondiastaticum*. Zu *Streptosporangium vulgare* könnte auf Grund physiologischer Merkmale nur SS 28 gerechnet werden; SS 14 und SS 63 weichen durch starke Nitratreduktion von dieser Art ab.

Die fünf Stämme mit mehr oder weniger weißem Luftmycel (SS 23, 46, 47, 48, 58) wären auf Verwandtschaft mit *Streptosporangium album*, *S. albidum* und auch *S. viridialbum* zu prüfen. Von diesen drei Arten kommen die beiden ersten nicht in Betracht, denn alle fünf Isolate bauen Stärke ab und sind auf Vitaminzusatz angewiesen, während *S. album* und *S. albidum* Stärke nicht hydrolysieren und *S. albidum* außerdem ohne Vitaminzusatz kultivierbar ist. Da das Luftmycel der fünf Stämme im reifen Zustand häufig schwach gelblich grau (SS 23, SS 58) oder cremefarben (SS 46, 47, 48) getönt erscheint, läßt sich eine Einordnung dieser Isolate bei *Streptosporangium viridialbum* noch am ehesten vertreten - sofern man den Merkmalen Gelatineverflüssigung und Milchpeptonisierung keine größere Bedeutung beimißt -, wobei außer SS 23 alle übrigen zur Varietät *reducens* zu rechnen wären.

Auf die Einheitlichkeit der Stämme SS 20, 21, 45, 49 und 51 und ihre Ähnlichkeit mit *Streptosporangium vulgare* wurde ebenfalls schon bei der

Behandlung der Kulturmerkmale (s. S. 142) hingewiesen. In den physiologischen Merkmalen besteht - die Kochsalzverträglichkeit ausgenommen - gute Übereinstimmung mit dieser Art. Die fünf Stämme wachsen als einzige der getesteten eigenen Isolate noch bei einer NaCl-Konzentration von 4 %. Der Vergleichsstamm von *Streptosporangium vulgare* hat diese Fähigkeit nicht.

Im Abschnitt "Stärkeabbau" wurde das Isolat SS 26 der Art *Streptosporangium album* zugeordnet (s. S. 169). Sowohl in den Koloniemerkmalen (vgl. die Abb. 24/2 und 19/7, 11) als auch in den physiologischen Eigenschaften entspricht dieser Stamm der Vergleichskultur von *S. album*, so daß die Zugehörigkeit zu dieser Art hinreichend gesichert ist. Die geringfügige Abweichung gegenüber den von NONOMURA u. OHARA (1960) gemachten Angaben zur Nitratreduktion kann unberücksichtigt bleiben, da auch der Vergleichsstamm, für den fehlendes Reduktionsvermögen genannt wird, wie SS 26 schwache Nitritbildung zeigt.

Ähnliche Kulturmerkmale wie SS 26 hat SS 64 (Abb. 24/10), unterscheidet sich aber physiologisch durch Befähigung zum Stärkeabbau. Die übrigen physiologischen Eigenschaften würden einer Eingliederung bei *Streptosporangium album* nicht im Wege stehen.

Von den Isolaten mit anders als rosa gefärbtem Luftmycel bleiben nun noch die Stämme SS 33, 36 und 50 (Tab. 13) zu besprechen. Da alle Stärke abbauen und auf vitaminfreien synthetischen Medien nur kümmerlich wachsen, lassen sie sich weder bei *Streptosporangium album* noch bei *S. albidum* einordnen. Sie kommen in ihren physiologischen Eigenschaften der Art *S. viridialbum* bzw. deren Varietät *reducens* (SS 33) am nächsten. Eine grünliche Tönung des Luftmycels habe ich allerdings bisher nicht beobachten können.

Die restlichen Stämme der Tabelle 14 (*Luftmycel rosa*) - SS 7, 24, 31, 35, 38 - stimmen darin überein, daß sie Nitrat nicht oder nur schwach (SS 38) reduzieren. Sie unterscheiden sich in diesem Merkmal und durch ein niedrigeres Temperaturmaximum von *Streptosporangium pseudovulgare* und *S. nondiastaticum*. Außerdem bauen sie sämtlich Stärke ab. Physiologisch sind sie mit Ausnahme von Isolat SS 31, das auch auf synthetischen Medien relativ gut wächst, der Art *S. vulgare* ähnlich. In der Kolonieform entspricht jedoch nur SS 24 (Abb. 23/9) dem Vergleichsstamm von *Streptosporangium vulgare* (Abb. 19/8). Für die recht verschieden aussehenden Kolonien der anderen Stämme (Abb. 23/8,10,11,12) finden sich bei den Isolaten SS 1 bis SS 69 und den Vergleichsstämmen keine Entsprechungen. Eine Zuordnung zu *Streptosporangium vulgare* ließe sich also nur unter Vorbehalt vertreten.

Da die bisher beschriebenen *Streptosporangium*-Arten z. T. nur durch wenige physiologische Merkmale unterschieden sind, wäre es nicht ungewöhnlich, die stärker abweichenden der hier besprochenen Stämme unsicherer Artenzugehörigkeit als neue Arten zu beschreiben. Das würde jedoch die bereits bestehende Unübersichtlichkeit der Gattung *Streptosporangium*, die sich ja vor allem an den Schwierigkeiten bei der Identifizierung neu isolierter Stämme deutlich zu erkennen gibt, nur noch vergrößern, zumal den betreffenden Isolaten hervorstechende, leicht erkennbare Merkmale fehlen.

Im übrigen liegen noch zu wenig hinreichend gesicherte, durch Langzeitbeobachtungen an einem größeren Stammmaterial bestätigte Ergebnisse zur Konstanz bzw. Variabilität der einzelnen physiologischen Merkmale bei der Gattung *Streptosporangium* vor, um über den artendifferenzierenden Wert mancher Eigenschaften allgemeingültige Aussagen machen zu können.

Bei den höchstens geringen morphologischen Unterschieden zwischen den meisten der bisher beschriebenen Streptosporangium-Stämme und der auch von NONOMURA u. OHARA beobachteten Divergenz in physiologischen Merkmalen bei Isolaten gleicher Artenzugehörigkeit (S. amethystogenes, S. vulgare; s. Tab. 10, S. 146 f.) erscheint es mir besser, die Arten weiter zu fassen als dies z. T. bisher geschehen ist und für eine größere Schwankungsbreite der Merkmale Raum zu lassen. HÜTTER, der sich in seiner "Systematik der Streptomyceten" zum Problem Zusammenfassung oder Unterteilung äußert (1967, S. 212), setzt sich für die Schaffung umfassenderer Einheiten ein und führt dazu aus: "Die Raffung zusammenhängender Variationsbereiche zu Arten ergibt nun eine größere Sicherheit in der Bestimmung neu isolierter Stämme als die Unterteilung in mehrere Gruppen, die nicht mit genügender Zuverlässigkeit getrennt werden können. Die Klassifizierung wird übersichtlich, die Bestimmungen werden reproduzierbar, es treten weniger Fehldiagnosen auf."

Besser charakterisiert und von den bekannten Arten stärker abweichend als die hier besprochenen Streptosporangium-Isolate sind einige mit Keratin und Pollen geköderte Stämme anderer Gattungszugehörigkeit, die im folgenden Kapitel als neue Arten beschrieben werden sollen.

3. Beschreibung der neuen Arten

3.1. Actinoplanes penicillatus D. Schäfer n. sp.

Typus: Stamm SE 2; weitere Stämme: SE 3, 7, 9, 20, 23, 25, 31, 48, 51, 54, 56, 57, 122, 131.

Abbildungen: Tafel 17, Abb. 2; Tafel 39.

3.1.1. Diagnose

Substrathyphen etwa 0,2 - 1,3 μ breit, verzweigt, im oberflächennahen Koloniebereich z. T. in Form kräftiger, sporangienbildender Palisadenhyphen vertikal orientiert.

Lufthyphen bis ungefähr 1,5 μ breit, kurz, mit endständigen Sporangien, die Kolonien reifartig bedeckend.

Sporangien groß, meist zylindrisch, krugförmig, glockenförmig oder - im optischen Schnitt - fächerförmig, zuweilen stark an die Sporangien von *Ampullariella regularis* erinnernd, manchmal länger als breit, häufig jedoch etwa so breit wie lang oder breiter als lang, etwa 6 - 20 x 6 - 20 μ ; Oberfläche meist glatt.

Sporen kugelig bis ellipsoid, ungefähr 0,8 - 1,2 μ , mit einem Geißelbüschel.

Sporenanordnung innerhalb des Sporangiums in Form längsgerichteter, mehr oder weniger paralleler Ketten, die von der Ansatzstelle des Sporangiphors ausgehen; Sporangien dadurch "pinselförmig" oder quastenförmig aussehend.

Wachstum auf einer Reihe von komplexen und synthetischen Medien gut bis sehr gut. Substratmycel braun, orangebraun oder orange. Kein echtes Luftmycel, Kolonieoberfläche aber mitunter - vor allem bei reichlicher Sporangienbildung - deutlich bereift. Sporangien insbesondere auf Haferflocken-Hefe-Agar zahlreich. Peptonhaltige Medien durch melanoid Pigmente braun bis dunkelbraun gefärbt.

Czapek-Agar: Wachstum gut bis sehr gut; Substratmycel bräunlich orange, orangebraun oder braun; Kolonieoberfläche z. T. matt bis dünn bereift; Agar ungefärbt, schwach bis kräftiger bräunlich gelb bis grünlich gelb, gelbgrün

oder goldbraun.

Casamino-Pepton-Czapek-Agar: Wachstum gut bis sehr gut; Substratmycel braun, orangebraun, dunkel rotbraun oder dunkelbraun; Agar braun, olivbraun oder bräunlich oliv. Kolonien oft bereift, aber meist ohne oder mit nur wenigen Sporangien. Einzeln wachsende Kolonien nach etwa sechs Wochen meist über 2 cm im Durchmesser, flach konvex mit radialen Rinnen, in der Mitte unregelmäßig wulstig.

Magermilch-Agar: Wachstum gut bis sehr gut; Substratmycel orange, orangebraun oder braun; Kolonieoberfläche meist glänzend, nur manchmal stellenweise dünn bereift; Agar schwach braun, goldbraun oder braun; Casein vollständig, nur zum Teil oder auch gar nicht peptonisiert.

Tyrosin-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel orangebraun, braun oder dunkelbraun; Kolonieoberfläche meist nicht oder nur stellenweise bereift; Agar braun bis schwarzbraun; Tyrosinkristalle nicht aufgelöst.

Haferflocken-Hefe-Agar: Wachstum gut; Substratmycel orangebraun bis braun; Kolonien mit reifartigem, aus Sporangiphoren und zahlreichen Sporangien bestehendem Überzug; Agar schwach braun bis braun.

Hefe-Stärke-Agar: Wachstum gut; Substratmycel bräunlich orange bis orangebraun oder braun; Kolonien bei einem Teil der Stämme mit reifartigem Überzug, Sporangien häufig vorhanden; Agar hellbraun bis dunkelbraun.

Gelatine verflüssigt; Stärke hydrolysiert; Nitritbildung aus Nitrat bei Stamm SE 2, Nitrat von den meisten Stämmen jedoch nicht reduziert. Gutes Wachstum im Temperaturbereich von 20 - 30°C; kein Wachstum bei 45°C.

Herkunft: Vorwiegend aus Erde von Kaffeepflanzungen und aus Ackerboden, gesammelt an verschiedenen Orten in Kenia (Stämme SE 3, 7, 9, 20, 23, 25, 31, 48, 51, 54, 56, 57). Von anderen Lokalitäten: Stamm SE 2 (Typus), Australien, Nähe Melbourne, Gartenerde; Stamm SE 122, Korsika, Nähe Aleria, Weingarten; Stamm SE 131, Spanien, Mündungsgebiet des Guadalquivir, Nähe Hinojos, Pinienwald. Geködert mit Pollen.

3.1.2. Bemerkungen und Diskussion

Als Hauptkennzeichen der Gattung *Actinoplanes* nennt COUCH in einem Schlüssel für die Gattungen der Actinoplanaceen (1963) begeißelte Sporen von annähernd kugelig-ger Gestalt und kugelige bis stark unregelmäßige Sporangien. Der Sporenform kommt dabei zweifellos die größere Bedeutung zu, da sie bei den beschriebenen Vertretern der Gattung im wesentlichen gleich ist, während die Sporangien sogar bei derselben Art erhebliche Unterschiede aufweisen können (s. z. B. COUCH, 1963: Diagnose von *Actinoplanes missouriensis*).

Die hier als neue Art beschriebenen Stämme haben kugelige bis ellipsoide Zoosporen (Abb. 39/4,11) und müssen daher zur Gattung *Actinoplanes* gestellt werden, obwohl ihre Sporangien zum Teil stark an *Ampullaria-riella* erinnern (s. Abb. 39/3,5). Dieser Eindruck wird sowohl durch die zylindrische Form mancher Sporangien als auch durch die Längsorientierung der mehr oder weniger parallel verlaufenden sporogenen Hyphen hervorgerufen, die zunächst oft kaum gegliedert erscheinen und erst nach dem Aufquellen in Wasser die Gestalt der Sporen deutlich erkennen lassen.

Neben zylindrischen Sporangien kommen verschiedene andere Formen vor, die man als flocken-, krug-, schüssel-, fächer- (Abb. 39/12) und nierenförmig (Abb. 39/13) bezeichnen kann; nicht selten sind sie breiter als lang (Abb. 39/7,8,12,13). Viele Sporangien haben das Aussehen einer Quaste oder eines Malerpinsels, wobei der Sporangio-phor dem Stiel, die Sporenreihen den Borsten entsprechen würden (s. z. B. Abb. 39/7 und 8, jeweils das rechte Sporangium). Da solche Sporangien häufig und ziemlich typisch sind, ist dieses Merkmal bei der Benennung der neuen Art berücksichtigt worden.

Von der Sporangienmorphologie her bestehen bei nur flüchtiger Betrachtung Verwechslungsmöglichkeiten mit *Ampullaria-riella regularis* und mehr noch mit *Ampullaria-riella lobata* (vgl. die

Abbildungen der Tafel 39 und die entsprechenden Zeichnungen bei COUCH, 1963, S. 62 - 64). Die Form der Sporen - bei *Ampullariella* sind sie lang stäbchenförmig (Abb. 8/1) - erlaubt jedoch eine einfache und sichere Unterscheidung. Auffällig ist zuweilen auch ein Unterschied in der Sporenanordnung. In den Sporangien von *Ampullariella regularis* befinden sich die Einschnürungen zwischen den einzelnen Sporen einer Kette bei benachbarten Sporenreihen oft auf ungefähr gleicher Höhe, so daß sich eine etagenartige Anordnung der Stäbchen ergibt (Abb. 29/5). Eine derartige horizontale Zonierung liegt in den *Ampullariella* - ähnlichen Sporangien von *Actinoplanes penicillatus* nicht vor.

Von den beschriebenen Arten der Gattung *Actinoplanes* weichen die Stämme der neuen Art vor allem in der Form ihrer Sporangien und in der Sporenanordnung ab. *Actinoplanes missouriensis* hat meist kugelige Sporangien (COUCH, 1963); bei *Actinoplanes brasiliensis* (THIEMANN et al., 1969), *A. philippinensis* (COUCH, 1950) und *A. utahensis* (COUCH, 1963) sind die Sporangien unregelmäßig geformt, ebenso bei *A. armeniacus*, wie aus den entsprechenden Abbildungen (KALAKUTSKII u. KUZNETSOV, 1964) zu entnehmen ist. Keine der genannten Arten weist eine deutlich *Ampullariella* - ähnliche Anordnung der Sporen auf.

In der Literatur ist allerdings verschiedentlich auf einzelne Stämme noch unbeschriebener Arten hingewiesen worden, bei denen die Sporen in der für *Ampullariella* typischen Weise orientiert sind (COUCH, 1963; WILLOUGHBY, 1966; HIGGINS, 1967; BLAND u. COUCH, 1968). Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten durch Sporangien eines solchen Stammes finden sich bei LECHE-VALIER u. Mitarb. (1966).

Die Kultur von *Actinoplanes penicillatus* bereitet keine besonderen Schwierigkeiten. In

den Temperatur- und Nährstoffansprüchen wie auch im Wachstumsverhalten stimmen die einzelnen Isolate gut mit den bekannten Vertretern der Gattung *Actinoplanes* überein. Die Stämme lassen sich auf den üblichen Nährböden und auf Pollen in Wasser kultivieren. Sporangien werden im allgemeinen reichlich auf Haferflocken-Hefe-Agar, Kartoffel-Karotten-Agar und Hefe-Stärke-Agar gebildet. Sie verleihen den Kolonien ein bereiftes Aussehen. Allerdings können auch sterile Kulturen einen staubigen Überzug aus kurzen Lufthyphen aufweisen. Mitunter ist die reifartige Bedeckung so stark ausgeprägt, daß man kaum noch einen Unterschied zu echtem Luftmycel machen kann (vgl. S. 77 f.).

Alle Stämme bilden melanoide Pigmente, unterscheiden sich aber zum Teil im Grad der Substratverfärbung. Weniger stark dunkelfärbend sind die Isolate SE 3, SE 23 und SE 48. Auch die Farbe der Kolonien auf peptonhaltigen Nährböden ist daher bei den einzelnen Stämmen nicht einheitlich, sondern reicht von orangebraun bis dunkelbraun.

Erhebliche Unterschiede zwischen den Isolaten bestehen im Verhalten gegenüber Niträt und Casein. Reduktion von Niträt zu Nitrit in deutlich nachweisbaren Mengen ließ sich nur bei Stamm SE 2 feststellen; die Testmedien der übrigen Stämme enthielten nach einem Monat noch unverändertes Niträt. Casein wird meist, aber nicht immer peptonisiert. Bei Isolat SE 7 blieb in mehrfach wiederholten Tests der Milchnährboden unverändert, bei fünf anderen Stämmen, die ursprünglich keine Caseinhydrolyse zeigten, erwies sich das Merkmal als nicht konstant (s. S. 157). Die Eigenschaften "Nitratreduktion" und "Caseinhydrolyse" können also zur Identifizierung von *Actinoplanes penicillatus* nicht mitverwendet werden.

Außer SE 3 wurden alle Stämme mit Pollen geködert und auf die übliche Weise (s. S. 36 f.) isoliert. Das Ausgangssporangium für die Kultur von Stamm SE 3 fand sich zusammen mit nur wenigen gleichartigen im Köderansatz auf einem Mäusehaar.

Actinoplanes penicillatus trat besonders häufig in Erdproben aus Kenia auf. 12 der 15 Isolate stammen aus solchen vorwiegend in Kaffeepflanzungen gesammelten Proben. Auf eine weite Verbreitung dieser neuen Art läßt sich aus den übrigen Fundorten schließen, die in Australien, in Spanien und auf Korsika liegen.

3.2. *Pilimelia columellifera* D. Schäfer n. sp.
var. *columellifera*

Typus: Stamm SK 6; weitere Stämme: SK 1, 2, 3, 4, 5, 33, 34, 35, 37, 40, 43, 45, 46, 47, 49, 52, 59, 70, 72.

Abbildungen: Tafel 25, Abb. 1 - 6; Tafel 36, Abb. 1 - 8, 11 - 13, 15 - 17; Tafel 37.

3.2.1. Diagnose

Substrathyphen etwa 0,2 - 0,8 μ breit, verzweigt. Lufthyphen (Sporangiophoren) bis ungefähr 1 μ breit; kurz, auf Agarkolonien nur als dünner reifartiger Überzug erkennbar.

Sporen in Sporangien und in Sporenständen.

Sporangien kugelig, oval oder auch birnförmig, meist 7 - 16 μ im Durchmesser, außerhalb des Substrates einzeln am Ende kurzer Sporangiphoren gebildet. Sporangiphor als Columella in das Sporangienlumen hinein verlängert; Columella in der Länge gewöhnlich einem Drittel bis der Hälfte des Sporangien Durchmessers entsprechend.

Sporangiosporen stäbchenförmig, etwa 0,35 - 0,45 x 0,8 - 1,5 μ (in elektronenmikroskopischen Präparaten), mit lateral angeheftetem Geißelbüschel; Schwärmbeginn in Wasser unter dem Deckglas etwa 45 bis 60 Minuten nach dem Eintauchen der Sporangien oder auch später; Sporen werden durch Aufreißen der Sporangien frei, bewegen sich mitunter schon innerhalb der Sporangien lebhaft. Anordnung der Sporangiosporen in Ketten, die vorwiegend vom häufig verbreiterten Endabschnitt der Columella schopfförmig nach allen Seiten auswachsen und sich in ihrem Verlauf oft nur schwer verfolgen lassen.

Sporenstände aus Traghyphae und terminalem Büschel von Sporenketten bestehend.

Wachstum auf den meisten gebräuchlichen Nährmedien nur gering, relativ gut auf einigen komplexen Nährböden, insbesondere auf verdünntem Magermilch-Agar. Substratmycel meist goldgelb bis gelborange. Luftmycel nicht entwickelt, Kolonienoberfläche aber bei reichlicher Sporangienbildung dünn bereift. Sporangien u. a. auf verdünnten Milchnährböden, auf Säugerhaaren in Mineralsalzlösung mit Zusatz von Casein-Aminosäuren und auf Haaren in Wasser über sterilisierter Erde. Keine substratlöslichen Farbstoffe außer melanoiden Pigmenten auf den verwendeten Medien.

Magermilch-Agar, halbkonzentriert (Ca/2): Wachstum gut; Substratmycel goldgelb bis gelborange; Agar unverändert bis schwach braun; Casein peptonisiert; Kolonien mit schuppig-warziger Oberfläche, Durchmesser nach 6 - 8 Wochen meist weniger als 5 mm; Sporangien häufig vorhanden.

Magermilch-Agar, verdünnt, mit Zusatz von Mineralsalzlösung (Ca/5-K): Wachstum mäßig bis gut; Substratmycel goldgelb bis orange; Agar unverändert bis schwach braun; Casein peptonisiert, zuweilen aber nur wenig; Sporangien meist vorhanden.

Magermilch-Agar, stark verdünnt, mit Zusatz von Rinderhornmehl (Ca/20-Ho): Wachstum mäßig, viele kleine Kolonien; Substratmycel goldgelb, bräunlich goldgelb, gelbbraun; Agar unverändert bis bräunlich gelb oder schwach braun; Casein peptonisiert; Sporangien meist vorhanden.

Pepton-Eisen-Hefeextrakt-Agar (Medium Nr. 6 des ISP): Wachstum mäßig bis gut, Kolonien größtenteils auf der Agaroberfläche, schuppig-warzig; Substratmycel goldgelb bis orange; Agar nicht verfärbt; keine Sporangien.

Tyrosin-Agar (Ty): Wachstum nur bei einem Teil der Stämme mäßig bis gut; Substratmycel goldgelb, bräunlich goldgelb oder braun; Agar unverändert oder goldbraun, rötlich braun oder braun; Tyrosinkristalle nicht oder nur zum Teil aufgelöst; Sporangien nicht vorhanden.

Abbau von Keratin; Reduktion von Nitrat zu Nitrit (Ca/2-NO₃-Agar). Gutes Wachstum im Temperaturbereich von 20 - 30° C; bei 37°C kein Wachstum mehr oder nur noch geringes Wachstum.

Herkunft: Angereichert aus humushaltiger Erde, gesammelt in Deutschland (SK 1, 2, 3), Ceylon (SK 33, 34), Griechenland (SK 40, 43, 45, 72), Israel (SK 47, 49), Jersey (SK 4), Jugoslawien (SK 46), Österreich (SK 59), Persien (SK 52), Peru (SK 6, Typus) und Spanien (SK 5, 35, 37, 70). Geködert mit Keratin.

- - - - -

var. pallida D. Schäfer n.var.

Typus: Stamm SK 8; weitere Stämme: SK 7, 32, 53, 66.

Abbildungen: Tafel 25, Abb. 7, 8; Tafel 36, Abb. 9, 10, 14.

Die Varietät ist durch abweichende Kulturmerkmale unterschieden. Substratmycel auf Milchnährböden nicht goldgelb oder orange, sondern farblos bis blaß bräunlich; Kolonien flach und relativ eben bleibend, nicht schuppig-warzig in die Höhe wachsend, zuweilen im Alter in der Mitte schwarz werdend. Casein nicht oder nur zu einem geringen Teil peptonisiert.

Tyrosin-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel braun bis dunkelbraun; Agar braun, dunkelbraun oder fast schwarz; Tyrosinkristalle nicht aufgelöst; keine Sporangien.

Haferflocken-Hefe-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel blaß braun bis braun; Agar nicht verfärbt; Sporangien zuweilen vorhanden.

Keine Bildung von Nitrit aus Nitrat.

Herkunft: Angereichert aus humushaltiger Erde, gesammelt an verschiedenen Orten in Deutschland (SK 7, 8, 32, 66) und in Portugal (SK 53).

Geködert mit Keratin.

3.2.2. Bemerkungen und Diskussion

Das auffälligste mikromorphologische Kennzeichen der neuen Art ist die Columella. Sie ermöglicht die Abgrenzung gegen alle anderen gültig beschriebenen Actinoplanaceen, da bei diesen eine ähnliche Sporangienstruktur nicht oder nur ausnahmsweise (s. S. 196) vorkommt.

Die Isolate der neuen Art entsprechen aber zweifellos dem von GAERTNER (1955) gefundenen keratinophilen "Organismus I", für den nur eine vorläufige Diagnose gegeben wurde, da die Form der Begeißelung noch geklärt werden mußte; außerdem lagen auch noch keine Agar- und Reinkulturen vor (s. S. 19 f.).

Bei der Isolierung der Stämme, auf denen die vorliegende Beschreibung von *Pilimelia columellifera* beruht, ergaben sich ebenfalls zunächst erhebliche Schwierigkeiten (s. S. 64 ff.). Die gereinigten und einzeln aufgeimpften Sporangien wuchsen auf den anfangs verwendeten Nährböden - zum Teil waren es solche Medien, die sich bei der Isolierung pollengeköderter Actinoplanaceen bewährt hatten - nicht oder nur vereinzelt an. Zufriedenstellende Isolierungsergebnisse ließen sich dann aber auf stark verdünntem Milchagar mit Zusatz von Mineralsalzen und pulverisiertem Rinderhornmehl (Ca/20-Ho) erhalten.

Relativ einfach ist dagegen die Anreicherung, bei der man auf die gleiche Weise verfährt wie beim Ködern von *Actinoplanes*, anstelle des Pollens aber Säugerhaare auf die Wasseroberfläche gibt (s. S. 36). Wenn *Pilimelia columellifera* in der verwendeten Erdprobe vorkommt, ist nach etwa zwei bis vier Wochen wenigstens ein Teil der Haare gewöhnlich so dicht mit zahlreichen Sporangien besetzt, daß man bei der mikroskopischen Kontrolle leicht auf die Art aufmerksam wird. *Pilimelia columellifera* ließ sich auf diese Weise in 36 von 427 untersuchten Proben nachweisen, was einer Häufigkeit von etwa 8,5 % entspricht.

Nicht selten finden sich neben Sporangien der neuen Art auch solche von *Pilimelia terevasa* oder ähnlichen keratinophilen Actinoplanaceen im gleichen Köderansatz, manchmal sogar auf ein und demselben Haar. Über diese gemeinsame Spezialisierung auf Abbau von Keratinsubstanzen hinaus gibt es zwischen den von KANE (1966) beschriebenen Vertretern der Gattung *Pilimelia* und den Stämmen mit Columella-Sporangien noch weitere Übereinstimmungen. Beide Gruppen stellen in Reinkultur recht ähnliche Ansprüche an das Nährmedium (s. S. 121 ff.), was allerdings kaum überrascht, da ja auch von beiden derselbe Köder angenommen und gleich gut besiedelt wird. Die Ähnlichkeit zeigt sich bereits beim Isolieren, denn zum Anwachsen einzeln aufgeimpfter Sporangien sind bei beiden Gruppen die gleichen Medien entweder gut geeignet oder weitgehend unbrauchbar. Im Aussehen der Kolonien unterscheiden sich *Pilimelia anulata* und *P. terevasa* jedoch deutlich von den Stämmen der neuen Art (s. S. 120 ff.; vgl. Tafel 25 und Tafel 26).

Taxonomisch bedeutsamer als gleiche Nährstoffansprüche dürften die übereinstimmenden Sporenmerkmale sein. Bei den Stämmen der neuen Art sind die Sporangiosporen wie bei *Pilimelia anulata* und *P. terevasa* stäbchenförmig; auch die Sporengröße entspricht den von KANE (1966) für die Gattung *Pilimelia* genannten Werten. Abweichend von den entsprechenden Angaben bei KANE ist die Art der Begeißelung (s. S. 99 f.). Der Diagnose zufolge haben sowohl *Pilimelia anulata* als auch *P. terevasa* Sporen mit einer Geißel, die bei *P. terevasa* polar, bei *P. anulata* meist polar angeheftet ist. Die Sporen der neuen Art weisen demgegenüber ein Büschel aus mehreren Geißeln auf, das an der Sporenlängsseite befestigt ist (Abb. 37/4,5,6). Dieser Unterschied scheint nicht unerheblich. Nun habe ich allerdings bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von columellafreien Stämmen (SK 10, 14, 15), die ich auf Grund ihrer Sporangien- und Kulturmerkmale für Vertreter von *Pilime-*

l i a t e r e v a s a halte, den gleichen Begeißelungstyp gefunden (Abb. 9/1,2,3). Eine entsprechende Untersuchung der Vergleichskulturen von *P i l i m e l i a t e r e v a s a* (KCC A-0091) und *P . a n u l a t a* (KCC A-0090), die zur Klärung nötig wäre, konnte ich bisher jedoch noch nicht durchführen, da die beiden Stämme bislang kaum Sporangien bildeten.

Auch wenn vorerst noch offenbleiben muß, ob die Begeißelung bei den Stämmen mit Columella-Sporangien und den beschriebenen *P i l i m e l i a* - Arten gleich oder verschieden ist, sprechen die genannten übereinstimmenden Merkmale weit mehr für eine Einordnung der neuen Art in die Gattung *P i l i m e l i a* als in eine der übrigen Gattungen. Verwechslungsmöglichkeiten mit *P i l i m e l i a a n u l a t a* und *P . t e r e v a s a* bestehen nicht. Diese unterscheiden sich durch geradlinige, vertikale Anordnung der Sporenketten, durch das Fehlen einer Columella und durch abweichende Kulturmerkmale von der neuen Art; *P i l i m e l i a a n u l a t a* hat darüberhinaus noch zylindrische Sporangien und eine charakteristische ringförmige Struktur am Sporangio-phor.

In Erwägung zu ziehen wäre, ob das Merkmal "Columella", das ja bei den bisher beschriebenen Actinoplanaceen nicht vorkommt, eventuell die Aufstellung einer neuen Gattung rechtfertigen würde. Ich möchte aber dieses Merkmal allein nicht als gattungsdifferenzierendes Kriterium verwenden, da fraglich ist, ob der Columella wirklich eine derartige Bedeutung zukommt. Sie fällt zwar als morphologische Besonderheit sofort auf, stellt aber eigentlich nichts anderes dar als die Verlängerung der Traghyphe, die hier weit in das Sporangienlumen hineinreicht, während sie bei den übrigen Arten am Sporangiengrund endet.

Die Columella ist bereits bei jungen Sporangien erkennbar (Abb. 36/2,3,4), hebt sich jedoch bei ausgereiften deutlicher vom Sporangieninhalt ab (Abb. 36/5,6,7,9,10). An ihrem Ende weist sie häufig die von GAERTNER (1955) er-

wähnte nagelkopffartige Verbreiterung auf (Abb. 36/6,10); nicht selten zeigt gerade der Endabschnitt auch Andeutungen einer Verzweigung (Abb. 36/5,6), deren Ursache darin zu sehen ist, daß ja die Columella den Ausgangspunkt für die zahlreichen Sporangiosporenketten bildet. Nach dem Ausschwärmen der Sporen bleibt die Columella im leeren Sporangium weiter sichtbar (Abb. 36/8), läßt sich aber wegen des geringeren Kontrastes weniger leicht wahrnehmen.

Gelegentlich scheint es auch bei anderen Actinoplanaceen zur Ausbildung einer Columella, d. h. zur Einbeziehung der Traghyph in das Sporangienlumen zu kommen. Solche columellaartigen Strukturen konnte ich vereinzelt bei Stamm SK 15 (*Pilimelia terevasa*) beobachten. Neben normalen Sporangien enthielten die Kulturen dieses Isolates auch solche, deren Traghyph von der Sporangienwand teilweise oder in ihrer ganzen Länge mantelartig umschlossen wurde (Abb. 36/18). In dem Raum zwischen "Columella" und Wand befanden sich Sporen.

Durch die Beschreibung von *Pilimelia columellifera* wird eine Gattung erweitert, die nicht von allen Forschern anerkannt ist. LECHEVALIER u. LECHEVALIER (1970) vertreten die Ansicht, es sei "impossible to understand from Kane's description why strains of *Pilimelia* should not be considered as strains of *Ampullariella*". Aus der Gattungsdiagnose (KANE, 1966) selbst läßt sich in der Tat eher der Eindruck weitgehender Übereinstimmung mit *Ampullariella* gewinnen als auf wesentliche Unterschiede zwischen *Pilimelia* und *Ampullariella* schließen. Beide Gattungen haben stäbchenförmige Sporen, die bei *Pilimelia annulata* und *P. terevasa* außerdem auch in der gleichen Weise angeordnet sind wie bei *Ampullariella*. Als Hauptunterschiede nennt KANE (1966, Diskussionsteil der Arbeit) Abweichungen im Öffnungsmechanismus sowie in Größe und Form der Sporangien, in Größe und Begeißelung der Sporen und in den Kulturmerkmalen.

Nach meinen Beobachtungen an den Stämmen von *Pilimelia columellifera* und an eigenen Isolaten von *P. terevasa* sind vor allem die Begeißelung und die Kulturmerkmale so verschieden von *Ampullariella*, daß ich die Gattungstrennung für berechtigt halte. Die beschriebenen *Ampullariella*-Stämme haben lophotriche Begeißelung, lassen sich auf komplexen und synthetischen Nährböden mühelos kultivieren und sind mit Pollen, nicht aber mit Keratinköderbar, während die von mir untersuchten *Pilimelia*-Stämme Sporen mit lateral inseriertem Geißelbüschel aufweisen, bisher nur auf einigen komplexen Nährböden einigermaßen gut kultivierbar sind und Keratinköder annehmen, mit Pollen aber nicht angereichert werden können. Auf Grund dieser Merkmale lassen sich *Pilimelia*- und *Ampullariella*-Isolate leicht voneinander unterscheiden.

Eher noch als eine Einordnung der *Pilimelia*-Stämme in die Gattung *Ampullariella* ließe sich der Zusammenschluß von *Ampullariella* und *Actinoplanes* (einschließlich *Amorphosporangium*) rechtfertigen, da diese Gattungen nur in der Sporenform deutlich voneinander abweichen, in den übrigen mikromorphologischen Merkmalen und in den Kultureigenschaften aber durch Merkmalsüberschneidungen eng miteinander verbunden sind. Die Gleichsetzung von *Pilimelia* und *Ampullariella* müßte folgerichtig die Zusammenfassung der Gattungen *Actinoplanes* (inkl. *Amorphosporangium*), *Ampullariella* und *Pilimelia* in einer Sammelgattung nach sich ziehen, wie sie bereits auf Grund von Zellwandanalysen von SZANISZLO u. GOODER (1967) vorgeschlagen wurde.

An der Aufstellung einer solchen Großgattung, die wahrscheinlich bald eine Vielzahl von Arten umfassen würde, da noch mit zahlreichen Neubeschreibungen zu rechnen ist, dürfte aber wegen des zwangsläufig damit verbundenen Verlustes an Übersichtlichkeit kaum jemand interessiert sein.

Es scheint mir daher wesentlich zweckmäßiger, bestehende Gattungen beizubehalten, wenn sie ohne Schwierigkeiten voneinander unterschieden werden können, und dies um so mehr, als von einem phylogenetisch begründeten System der Bakterien noch kaum die Rede sein kann und für die Klassifizierung ohnehin vorwiegend praktische Gesichtspunkte ausschlaggebend sind.

Pilimelia columellifera ist eine weit verbreitete Art; die Fundorte der isolierten Stämme liegen in Europa, Asien und Südamerika. GAERTNER (1955) berichtete über ein relativ häufiges Vorkommen der vermutlich gleichen Art in afrikanischen Bodenproben.

Da Köder aus Keratin leicht angenommen werden, bisher aber kein Befall pflanzlichen Materials beobachtet wurde, dürfte die Art auch im Erdboden vorwiegend oder ausschließlich auf Haaren, Federn und anderen Stoffen ähnlicher Zusammensetzung wachsen. Die besiedelten Keratinsubstanzen zeigen an den Befallsstellen nach einiger Zeit deutliche Strukturveränderungen und Abbauerscheinungen (s. auch GAERTNER, 1955). Noch bevor eine Zerstörung der äußeren Form erkennbar wird, läßt sich an befallenen Haaren eine stärkere Färbbarkeit (Baumwollblau) der bewachsenen Abschnitte feststellen. Die Haare verlieren ihre Biegefestigkeit und brechen an den entsprechenden Stellen schon bei geringer Beanspruchung auseinander. Nach mehrwöchigem Befall kann der Abbau so weit fortgeschritten sein, daß die Haare an den besiedelten Abschnitten weich und verformbar werden und ihre Struktur weitgehend aufgelöst erscheint (Abb. 36/17 und 37/3).

Auch in diesem Stadium befinden sich in den mit Wasser angesetzten Anreicherungskulturen gewöhnlich nur Sporangien und Sporangioophoren, aber keine vegetativen Hyphen außen auf den Haaren. Beim Kultivieren in schwachen Nährlösungen (z. B. KEC) sind die Haare dagegen oft auch außen stark mit Mycel bewachsen (Abb. 37/1), das teils steril bleibt, teils zahlreiche Sporangien (Abb. 37/2) und einzelne Sporenstände (Abb. 36/11,12,13) bildet.

Keratinabbauende Mikroorganismen können als potentielle Dermatophyten angesehen werden. Bisher sind jedoch, soweit mir bekannt, keine Erkrankungen durch Actinomyceten, die mit *Pilimelia* identisch sein könnten, beobachtet worden.

3.3. Spirillospora rubra D. Schäfer n. sp.

Typus: Stamm SK 31; zweiter Stamm: SK 30.

Abbildungen: Tafel 38.

3.3.1. Diagnose

Substrathyphen etwa $0,4 - 0,9 \mu$ breit, verzweigt.

Lufthyphen ungefähr $0,6 - 1,2 \mu$ breit, lang, verzweigt, zum Teil auch über größere Strecken ohne Seitenhyphen. Luftmycel weiß, wollig.

Sporangien kugelig, meist $10 - 25 \mu$ im Durchmesser; am Ende kurzer Seitenhyphen des Luftmycels oder auch manchmal terminal an kurzen, unverzweigten Lufthyphen gebildet.

Sporen stäbchenförmig, häufig leicht gekrümmt; meist $0,6 - 0,8 \times 1,8 - 2,8$ (bis $3,2$) μ (lebend, in wässrigem Milieu) bzw. etwa $0,35 - 0,6 \times 1,2 - 2,4 \mu$ (fixiert, in elektronenmikroskopischen Präparaten); in Form spiraliger Ketten in den Sporangien angeordnet; lophotrich¹⁾ begeißelt; schwärmen unter dem Deckglas in Wasser gewöhnlich etwas später als eine Stunde nach dem Eintauchen der Sporangien; Sporen werden durch Aufplatzen der Sporangien frei, schwimmen gut, aber nicht sehr schnell, bewegen sich oft schon heftig innerhalb des Sporangiums, sobald dafür genügend Raum vorhanden ist.

Keimung der Sporen mit einem oder zwei Keimschläuchen an den Stäbchenpolen.

Wachstum der beiden Isolate auf den verwendeten Nährböden schwächer als beispielsweise das der meisten Actinoplanes-Stämme; relativ gut auf verschiedenen komplexen Medien wie

1) möglicherweise auch subpolar polytrich, s. S. 100

Hefe-Stärke-Agar und Magermilch-Agar; auf Czapek-Agar Wachstum nur gering, kein Wachstum auf Mineralsalz-Agar mit Zusatz von Glucose bzw. anderen gebräuchlichen C-Quellen.

Substratmycel meist rot, auch bräunlich rot oder blaß rot. Luftmycel weiß, wollig, auf halbkonzentriertem Maismehl-Agar - vor allem bei Zusatz von Erde - und Stärke-Agar. Keine Bildung substratlöslicher Farbstoffe auf den benutzten Medien.

Hefe-Stärke-Agar: Wachstum gut; Substratmycel rot; kein Luftmycel.

Magermilch-Agar: Wachstum gut; Substratmycel rot; kein Luftmycel; Casein peptonisiert.

Maismehl-Agar, halbkonzentriert, mit Gartenerde (CM/2-E): Wachstum mäßig bis gut; Substratmycel blaß rot; Luftmycel in Form weißer, wolliger Flecken, mit zahlreichen Sporangien.

Stärke-Agar: Wachstum gering bis mäßig; Substratmycel blaß bräunlich rot; nach mehreren Monaten mit wenig Luftmycel und Sporangien.

Haerflocken-Hefe-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel blaß rot; kein Luftmycel. Auf halbkonzentriertem Haerflocken-Hefe-Agar und stärkeren Verdünnungen dieses Nährbodens zuweilen ein wenig Luftmycel.

Pepton-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel rot; kein Luftmycel.

Tyrosin-Agar: Wachstum mäßig bis gut; Substratmycel braunrot; kein Luftmycel; Tyrosin-Kristalle nicht aufgelöst; Agar hellbraun bis braun.

Casamino-Pepton-Czapek-Agar: Wachstum mäßig; Substratmycel blaß braunrot; kein Luftmycel.

Czapek-Agar: Wachstum gering; Substratmycel blaß rot; kein Luftmycel.

Reduktion von Nitrat zu Nitrit (Ca/2-NO₃-Agar).

Gutes Wachstum im Temperaturbereich von 20 - 37°C; bei

42°C Wachstum mäßig, bei 50°C kein Wachstum mehr.

Herkunft: SK 30 aus Erde von abgeerntetem Weizenfeld bei Yozgat, Türkei; SK 31 aus Erde von magerer Schafweide bei Teheran, Iran.

Geködert mit Keratin.

3.3.2. Bemerkungen und Diskussion

Die wichtigsten Kennzeichen der Gattung *Spirillo-spora* sind *Streptosporangium*-ähnliches Mycel, vorwiegend kugelige Sporangien und begeißelte Sporangiosporen von stäbchenförmiger bis schraubiger Gestalt, die aus spiralig verlaufenden Hyphen entstehen (COUCH, 1963). Diese Merkmale finden sich bei den Stämmen SK 30 und SK 31 (s. Tafel 38). Sie charakterisieren die beiden Isolate eindeutig als Angehörige der Gattung *Spirillo-spora*.

Bisher besteht die Gattung nur aus *Spirillo-spora albid*a, einer Art mit weißem Luftmycel und meist weißem bis blaß gelbem Substratmycel (COUCH, 1963). In der Literatur wird ferner über taxonomisch nicht näher charakterisierte *Spirillo-spora*-Stämme berichtet, die Peptonlösung oder Czapeks Medium - insbesondere bei Dunkelkultur - blau färben (DOMNAS, 1968; DOMNAS, 1970; McINNIS u. DOMNAS, 1970). WILLOUGHBY (1969 a) konnte mittels Chitin-Agar einen Actinomyceten mit ursprünglich rosafarbenem, in den Subkulturen jedoch mehr orange gefärbtem Substratmycel anreichern, den er - allerdings unter Vorbehalt, da noch ungeklärt ist, ob die Sporen schwimmfähig sind, - bei *Spirillo-spora* einordnet.

Sofern dieser Stamm wirklich zur Gattung gehört, ist er möglicherweise in die Nähe der eigenen Isolate SK 30 und SK 31 zu stellen. Ähnlichkeit besteht jedenfalls in der roten Färbung des Substratmycels. SK 30 und SK 31 weisen jedoch meist kräftig rote bis bräunlich rote, zuweilen allerdings auch blaß rote Kolonien auf.

Die rote Mycelfärbung unterscheidet die beiden untereinander weitgehend identischen Isolate von den beschriebenen Stämmen der Art *Spirillospora albid*a . Darüberhinaus ist das Wachstum auf den hier verwendeten Nährmedien schwächer als das der Vergleichskultur (KCC A-0041) und der eigenen Isolate von *Spirillospora albid*a . Zur Bildung von Luftmycel kommt es nur auf wenigen Nährböden wie Maismehl-Agar mit Erdzusatz (CM/2-E) und Stärke-Agar (St). Anders als bei *Spirillospora albid*a , deren Kulturen häufig ganz von Luftmycel bedeckt sind, zeigen bei SK 30 und SK 31 die Kolonien gewöhnlich nur kleine Flecken weißen, wolligen Luftmycels, und dies oft erst nach mehrwöchigem Wachstum.

Blaue substratverfärbende Pigmente werden von SK 30 und SK 31 nicht produziert, so daß auch eine Übereinstimmung mit den obengenannten farbstoffbildenden Stämmen ausgeschlossen werden kann.

In der Sporangien- und Sporenmorphologie weichen SK 30 und SK 31 nicht wesentlich von *Spirillospora albid*a ab. Die gemessenen Sporangiengrößen liegen innerhalb des von COUCH (1963) genannten Bereichs; allerdings haben die Sporangien der beiden Stämme auf CM/2-E-Agar meist einen mehr als 10 μ betragenden Durchmesser und sind damit im Durchschnitt größer als die von *Spirillospora albid*a . Demgegenüber scheint die maximale Länge der Sporangiosporen bei SK 30 und SK 31 geringer zu sein als bei *Spirillospora albid*a , wo sie nach COUCH (1963) bis zu 6 μ betragen kann.

Die Sporen schwimmen - vergleicht man sie mit ausschwärmenden *Actinoplanes* - Sporen - relativ langsam, wobei mitunter der Sporenkörper selbst wedelnd hin und her bewegt wird. COUCH (1963) bezeichnet die Sporen der Art *Spirillospora albid*a ebenfalls als langsame Schwimmer, während HIGGINS u. Mitarb.

(1967) bei zwei untersuchten *Spirillospora*-Stämmen in der Bewegungsintensität keinen Unterschied gegenüber schwimmenden Sporen anderer Actinomyceten feststellten.

Bemerkenswert ist, daß beide Stämme von *Spirillospora rubra* mit Keratin (Maushaar) angereichert wurden, während in den zahlreichen, mit Pollen beködeten Ansätzen keine Vertreter dieser neuen Art gefunden werden konnten. Der Zusatz von Keratin zum Nährmedium, etwa in Form pulverisierter Hornspäne, hatte jedoch weder die Bildung von Luftmycel und Sporangien, noch ein spürbar besseres Wachstum zur Folge.

Die beiden Isolate stammen aus Erdproben, die in den Jahren 1966 und 1968 in Persien und in der Türkei gesammelt wurden. Da die bisher einzigen Fundorte - Teheran und Yozgat - nicht sehr weit voneinander entfernt sind, wird es von Interesse sein, ob durch weitere Funde ein häufigeres Vorkommen von *Spirillospora rubra* auch in anderen Gebieten nachgewiesen werden kann.

4. Zur Verbreitung der Actinoplanaceen

Das Wissen über ein Lebewesen muß unvollständig erscheinen, wenn die Kenntnis seiner morphologischen und physiologischen Eigenschaften nicht auch durch Einsichten in seine Ökologie ergänzt wird.

Im Gegensatz zu Pflanze und Tier entziehen sich jedoch die Bakterien einschließlich der Actinomyceten einer direkten Beobachtung im natürlichen Lebensraum weitgehend, so daß nur wenige Ergebnisse zur Ökologie leicht gewonnen werden können. So vermitteln etwa die Fundorte ein Bild von der Verbreitung. Aus der Häufigkeit in einem repräsentativen Probenmaterial läßt sich auf die Häufigkeit in der Natur schließen. Das Vorkommen in Proben besonderer Zusammensetzung oder Herkunft deutet möglicherweise auf spezielle Eigenschaften und Ansprüche der betreffenden Organismen hin.

Angaben zur Verbreitung und Häufigkeit von Actinoplanaceen, basierend auf einer großen Zahl untersuchter Proben, finden sich insbesondere bei COUCH (1963). Er bezeichnet die Familie als weit verbreitet in Erde und Süßwasser. Einige der einzelnen Arten sind von ihm nur in wenigen Proben gefunden worden und gelten daher als selten (*Ampullariella digitata*, *Ampullariella lobata*, *Amorphosporangium auranticolor*).

Dabei darf aber nicht übersehen werden, daß solche Angaben zur Häufigkeit und Verbreitung streng genommen nur im Hinblick auf die angewendete Anreicherungsverfahren Gültigkeit haben. Von ihrer Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit hängt es ab, ob jedes Vorkommen nachgewiesen werden kann. Zwar wird auch ein weniger gut geeignetes Verfahren möglicherweise zum Erfolg führen, wenn der gesuchte Organismus in der Probe reichlich vorhanden ist. Es dürfte aber im allgemeinen dann versagen, wenn die Probe nur wenige Keime enthält.

Nun ist die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von einzelnen Keimen der meisten bekannten saprophytischen Mi-

kroorganismen in humusreichen Erdproben aber keineswegs gering. Infolge ihres minimalen Gewichtes werden Mikroorganismen durch den Wind leicht und weit verbreitet, so daß praktisch überall mit ihrer Anwesenheit gerechnet werden kann. Ob sie sich vermehren, hängt von dem vorgefundenen Milieu ab, d. h. insbesondere von dem Angebot an verwertbaren Substraten, von der Feuchtigkeit, der Temperatur, der Belüftung, dem p_H -Wert und den Begleitorganismen. In Böden, die günstige Entwicklungsmöglichkeiten bieten, sind die betreffenden Organismen dann regelmäßig und zahlreich zu finden und lassen sich gewöhnlich auch mit weniger empfindlichen Methoden nachweisen.

Da oft schon auf kleinstem Raum sehr unterschiedliche Milieuverhältnisse herrschen, braucht ein Gebiet nicht besonders weiträumig zu sein, um den verschiedenartigsten Mikroorganismen Lebensmöglichkeiten zu bieten. Man wird daher die Mehrzahl der beschriebenen Arten mit Ausnahme hochspezialisierter Formen extremer Biotope aus Proben anreichern können, die nicht an weit entfernten Orten gesammelt zu sein brauchen, sondern aus der unmittelbaren Umgebung stammen. Es scheint deshalb auch wenig sinnvoll, Untersuchungen vorwiegend qualitativer Art über das Vorkommen in einzelnen Ländern vorzunehmen, etwa mit dem Ziel, Artenlisten für bestimmte Gebiete zu erstellen, wie es für höher organisierte und stärker ortsgebundene Lebewesen durchaus zweckmäßig ist.

Von Interesse wären vielmehr quantitative Untersuchungen, die Aufschluß darüber geben könnten, unter welchen Milieubedingungen die einzelnen Arten gehäuft auftreten und an welchen Abbauprozessen sie im wesentlichen beteiligt sind.

Eine solche Bearbeitung setzt allerdings die Beherrschung von Methoden voraus, die es ermöglichen, alle vorhandenen Keime der interessierenden Arten nachzuweisen und zu zählen. Die in der vorliegenden Arbeit zum Ködern benutzten Verfahren - Anreicherung mit Pollen, Keratin und anderen Substanzen - sind in dieser Form zur Keimzahlbestimmung nicht geeignet. An die Stelle der Ködermethoden müßten

Plattierungsverfahren mit hoher Selektivität und guten Entwicklungsmöglichkeiten für die gesuchten Actinoplanaceen treten. Der zum Anreichern von *Streptosporangium* - Arten verwendete Nährboden (KE) genügt diesen Anforderungen noch nicht, da auf ihm einerseits viele andere Organismen relativ gut wachsen, andererseits aber die *Streptosporangium* - Kolonien häufig so klein bleiben, daß sie erst unter dem Mikroskop ausfindig gemacht werden können.

Mit der Zusammenstellung gut geeigneter Medien wären allerdings noch nicht alle Schwierigkeiten behoben, die bei der quantitativen Erfassung von Actinoplanaceen zu erwarten sind. Im Gegensatz zu anderen Bakteriengruppen werden bei sporangienbildenden Actinomyceten die Ergebnisse sehr unterschiedlich ausfallen, je nachdem, ob die Sporangien ungeöffnet auf das Testmedium gebracht werden oder ob die Sporen vorher ausschwärmen. Im ersteren Fall wird jedes Sporangium zu einer Kolonie auswachsen, im letzteren können dagegen aus einem einzigen Sporangium je nach Sporenzahl möglicherweise mehr als tausend Kolonien entstehen.

Es war nicht beabsichtigt, im Rahmen dieser Arbeit näher auf die Ökologie der Actinoplanaceen einzugehen. Daher wurden auch keine quantitativen Untersuchungen in Form von Keimzahlbestimmungen durchgeführt. Über das Vorkommen sporangienbildender Actinomyceten in den getesteten Proben ist bereits im Kapitel D.1.1. (S. 51 ff.) berichtet worden. Wie aus Tabelle 1 (S. 52) hervorgeht, enthielten 56 % der untersuchten Proben pollenbefallende Actinoplanaceen; die Gattung *Streptosporangium* ließ sich aus 35 % der Proben durch Ausstrich auf Agarplatten anreichern; keratinophile Actinoplanaceen kamen in 22 % der Proben vor. Lediglich in 20 % der Proben konnten mit keinem der benutzten Köder- und Anreicherungsverfahren Actinoplanaceen nachgewiesen werden.

Wie zu erwarten, ergeben sich sehr ähnliche Zahlenverhältnisse, wenn anstelle der gesamten, überwiegend in fremden

Ländern gesammelten Proben nur die einheimischen betrachtet werden. Aus Deutschland, und zwar aus Hessen und den unmittelbar benachbarten Gebieten, stammen 107 Erdproben. Etwa ein Viertel davon wurde in und um Marburg gesammelt. In 79 % dieser einheimischen Erdproben ließen sich Actinoplanaceen nachweisen. Pollenbefallende Formen kamen in 55 %, keratinophile in 23 % der Proben vor. Vertreter der Gattung *Streptosporangium* wurden in 40 % der Proben gefunden.

Den größten Anteil stellt - ebenso wie in den Proben aus anderen Ländern - die Gattung *Actinoplanes*. Isoliert wurden 73 Stämme. Sie gehören vorwiegend zur Gruppe mit unregelmäßig geformten Sporangien. Einige Isolate haben kugelige, einige auch *Ampullariella* - ähnliche Sporangien.

Von der Gattung *Ampullariella* konnten 10 Stämme isoliert werden, die bei den Arten *Ampullariella regularis* und *A. digitata* einzuordnen sind. Letztere wurde bis zum Jahre 1963 nur dreimal gefunden und gilt als selten (COUCH, 1963).

Die keratinophile Gattung *Pilimelia* ist mit 13 Stämmen unter den Isolaten aus einheimischen Erdproben vertreten. Sechs dieser Stämme weisen die Merkmale von *Pilimelia terevasa* auf, die sieben übrigen gehören zur neuen Art *P. columellifera* bzw. deren var. *pallida* (4 Stämme).

In Entsprechung zum Gesamtisolierungsergebnis bildet auch hier die Gattung *Streptosporangium* die zweitstärkste Gruppe. Isoliert wurden 42 Stämme, die sich größtenteils auf die beiden Arten *Streptosporangium roseum* (18 Stämme) und *S. rubrum* (11 Stämme) verteilen. Unter den Isolaten befinden sich außerdem zwei Stämme von *Streptosporangium amethystogenes* und ein Stamm von *S. album*. Zwei weitere Isolate können der Art *S. vulgare* zugerechnet werden.

Die 42 *Streptosporangium* - Stämme wurden aus Proben isoliert, deren p_H -Werte von 3,6 bis 8,0 reichten. 19 dieser Isolate stammen aus sauren, unter Eichen, Buchen und Kiefern gesammelten Proben von Waldböden, in denen sich mit Pollen und Keratin meist keine Actinoplanaceen ködern ließen. Dies könnte darauf hindeuten, daß die Gattung *Streptosporangium* in sauren Böden stärker vertreten ist als andere, mit Pollen und Keratin köderbare Actinoplanaceen-Gattungen. VAN BRUMMELEN u. WENT (1957) fanden die Gattung ausschließlich in saurer Bodenstreu (p_H 4,1 - 5,7) von Eichenwäldern und unter Buchen und Douglasien.

Die Mehrzahl der 83 einheimischen *Actinoplane* - und *Ampullariella* - Isolate stammt hingegen aus nahezu neutral bis leicht alkalisch reagierenden Böden. Ein Teil wurde allerdings auch aus sauren Proben isoliert. Die Extremwerte liegen bei p_H 5,1 und 8,5.

Vorwiegend alkalische Reaktion wiesen die Böden auf, aus denen die *Pilimelia* - Stämme angereichert wurden. Hier lag der niedrigste Wert bei p_H 6,3; der höchste entspricht mit p_H 8,5 dem für die Pollenisolate genannten. Möglicherweise sind diese keratinophilen Actinoplanaceen zur optimalen Vermehrung stärker auf höhere p_H -Werte angewiesen als die obengenannten Gruppen, deren Vertreter ja zum Teil aus relativ saurem Milieu angereichert werden konnten.

Obwohl hinsichtlich der Isolierungsergebnisse grundsätzlich sehr viel Ähnlichkeit zwischen den einheimischen und den übrigen, in anderen Ländern gesammelten Proben besteht, sind zwei der sechs gefundenen Gattungen - *Spirillospora* und *Planomonospora* - unter den Isolaten aus inländischen Proben nicht vertreten. Von diesen beiden Gattungen konnten überhaupt nur wenige Stämme in Kultur genommen werden (s. S. 108 f.). Die Vermutung liegt nahe, daß die hier benutzten Köder- und Anreicherungsverfahren für *Spirillospora*

und *Planomonospora* nicht in gleichem Maße geeignet sind wie für die übrigen Gattungen. Dies scheint insbesondere für *Planomonospora* zu gelten, da Angehörige dieser Gattung - außer durch THIEMANN u. Mitarb. (THIEMANN et al., 1967 b; THIEMANN, 1970)¹⁾, die wahrscheinlich auf andere Weise anreicherten - bisher offensichtlich noch kaum isoliert werden konnten (s. S. 21).

Die drei eigenen Stämme (SE 100, SE 101, SE 149) wurden mit Hilfe der Pollenködermethode gefunden. SE 149 stammt aus einer Probe, die diesen Organismus offensichtlich ziemlich reichlich enthielt, wie aus dem gehäuften Vorkommen im Pollenköderansatz und in diesem Fall auch auf der entsprechenden Erdausstrichplatte geschlossen werden kann.

Da in der Literatur für *Planomonospora* bisher nur wenige Fundorte bekannt sind - *P. parontospora*: Chile (Atacama), Indien (Haiderabad); *P. venezuelensis*: Venezuela; (s. THIEMANN et al., 1967 b; THIEMANN, 1970) -, sei hier noch ergänzend die Herkunft der drei eigenen Isolate dieser Gattung mitgeteilt:

- P. parontospora*, Stamm SE 101: Ceylon, Anuradhapura, Rasenerde;
P. venezuelensis, SE 100: Korsika, bei Aleria, Erde unter Lebensbaum;
P. venezuelensis, SE 149: Griechenland, Mykene, Rasenerde.

1) THIEMANN (1970) fand Vertreter der Gattung *Planomonospora* in 10 von 454 untersuchten Erdproben.

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

Da aus den bisherigen Veröffentlichungen über Actinoplanaceen hervorgeht, daß zur Zeit nur erst ein Teil der existierenden Arten bekannt und taxonomisch bearbeitet sein dürfte, wird die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit vor allem darin gesehen, ein größeres Probenmaterial auf das Vorkommen von Actinoplanaceen zu prüfen, die Reinzüchtung der gefundenen Organismen zu versuchen, ihre charakteristischen Eigenschaften festzustellen und sie entweder bekannten Arten zuzuordnen oder als abweichende Formen zu erkennen und gegebenenfalls zu beschreiben.

Über die bereits bekannten Gattungen und Arten der Familie, über Gruppierungsversuche und wichtige Einteilungskriterien informiert ein einleitendes Kapitel; es enthält darüberhinaus einen Vorschlag zur Untergliederung der *Actinoplanaceae* in die Unterfamilien *Actinoplanoidae* und *Streptosporangioideae* mit den Gattungen *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Dactylosporangium* und *Pilimelia* bzw. *Streptosporangium*, *Spirillospora*, *Planomonospora*, *Planobispora* und *Kitasatoa*.

Auf die Anwesenheit von Actinoplanaceen wurden 450 zumeist aus humushaltiger Erde bestehende Proben untersucht, die zum Teil aus Deutschland, in der Mehrzahl jedoch aus anderen Ländern stammen.

Von den angewendeten Anreicherungsverfahren erwiesen sich als geeignet

- a) das Ködern mit Pollen (Liquidambar, Pinus, Sparganium) und mit Pilzpulver (*Armillariella mellea*, Fruchtkörpersstückchen),
- b) das Ködern mit Säugerhaaren,
- c) der Probenausstrich auf Platten mit "Künstlichem Erdextrakt"-Agar und Abwandlungen dieses Nährbodens.

Mit Hilfe dieser Verfahren konnten in 80 % der Proben Actinoplanaceen nachgewiesen werden. Pollenbefallende Formen ließen sich aus 56 %, keratinophile aus 22 % der Proben anreichern. Ausstrich auf Agar führte bei 35 % der Proben zum Erfolg.

Die Isolierung geschah durch Beimpfen geeigneter Nährböden mit einzelnen, nach morphologischen Unterschieden ausgewählten, gereinigten Sporangien. Unter den geprüften Medien waren die folgenden für das Anwachsen der isolierten Sporangien besonders geeignet:

- a) halbkonzentrierter Casamino-Pepton-Czapek-Agar bei pollengeköderten Organismen (Anwachsrate 84 %) und bei Actinoplanaceen, die von Ausstrichplatten stammten (Anwachsrate 78 %),
- b) stark verdünnter Magermilch-Agar mit Zusatz von Mineralsalzen und Rinderhornmehl bei den keratingeköderten Formen (Anwachsrate 67 %).

Gereinigt und aufgeimpft wurden 2600 einzelne Sporangien, von denen 1280 zu Kolonien heranwuchsen. Auf diese Weise konnten 526 der 658 gefundenen Stämme in Kultur genommen werden: 293 Pollenisolate, 161 Stämme von Ausstrichplatten und 72 mit Keratin geköderte Isolate.

Sie ließen sich auf Grund ihrer Mycel-, Sporangien- und Sporenmorphologie den Gattungen *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Pilimelia*, *Planomonospora*, *Spirillospora* und *Streptosporangium* zuordnen.

Amorphosporangium wird als synonym mit *Actinoplanes* angesehen, da eine Gattungstrennung nicht mehr sinnvoll erscheint, nachdem durch KANE HANTON die Berührung der Sporangiosporen nachgewiesen wurde.

Zur Gattung *Actinoplanes* gehören 244 der 526 Stämme. Fast alle wurden mit Pollen geködert. Nach der Sporangienmorphologie läßt sich eine grobe Einteilung in Isolate mit (a) unregelmäßig geformten, (b) mehr oder weniger kugeligen und (c) *Ampullariella*-ähnlichen Sporangien vornehmen. Hinsichtlich ihrer Kolonie-

merkmale und physiologischen Eigenschaften verhalten sich die Stämme der so gebildeten Gruppen nicht einheitlich. Sie können einer Reihe verschiedener Arten zugerechnet werden, zu deren Unterscheidung in besonderem Maße auch nichtmorphologische Merkmale verwendet werden müssen. Die eindeutige Zuordnung zu bereits beschriebenen Arten der Gattung ließ sich nicht sicher durchführen.

Da von anderer Seite eine Monographie der Gattung *Actinoplanes* beabsichtigt ist (s. S. 106), wurde eine eingehende Bearbeitung sämtlicher Isolate nicht vorgenommen. Befunde zu Kultureigenschaften und physiologischen Leistungen werden jedoch von einer Auswahl der Stämme mitgeteilt. Außerdem werden 15 untereinander sehr ähnliche Isolate, die durch große, zum Teil stark an *Ampullariella* erinnernde Sporangien mit längorientierten, geraden Sporenketten gekennzeichnet sind und sich dadurch von den bekannten *Actinoplanes*-Arten deutlich unterscheiden, als neue Art - *Actinoplanes penicillatus* - beschrieben.

Die Gattung *Ampullariella* ist unter den Isolaten mit 45 Stämmen vertreten. Von diesen wurden 44 mit Pollen geködert; ein Stamm wuchs auf Pilzpulver. Die Mehrzahl der Isolate ließ sich anhand der Sporangienmorphologie verhältnismäßig leicht den hauptsächlich morphologisch charakterisierten Arten zuordnen. Bei einem Teil der Stämme reichten morphologische Kriterien allein für eine sichere Bestimmung nicht aus. Drei zweifelhafte Isolate konnten auf Grund ihrer dunkel rostbraunen bis braunschwarzen Mycelfärbung auf Czapek-Agar als Angehörige der Art *Ampullariella campanulata* identifiziert werden. In anderen Fällen mußte der vorwiegend von *Ampullariella digitata* gebildete gelbgrüne substratlösliche Farbstoff (Czapek-Agar u. a.) als Bestimmungsmerkmal mitverwendet werden. Durch eine intensiv bräunlich rote Verfärbung von Czapek-Agar weichen acht Isolate der Art *Ampullariella regularis* von den in der Diagnose ge-

nannten Merkmalen ab. Insgesamt zeigte sich in den Koloniemerkmalen und physiologischen Eigenschaften eine große Ähnlichkeit mit den *Actinoplanes*-Isolaten.

Von den Stämmen, die ohne größere Schwierigkeiten zugeordnet werden konnten, gehören 15 zur Art *Ampullariella regularis*, 10 zu *A. digitata* und 6 zu *A. campanulata*. Die vierte der beschriebenen Arten, *A. lobata*, ist unter den Isolaten nicht vertreten.

Der Gattung *Pilimelia* gehören 70 Stämme an. Sie wurden sämtlich mit Keratin angereichert. Diese Isolate bereiteten beim Kultivieren größere Schwierigkeiten als die Stämme der anderen Gattungen. Von den verwendeten Nährböden erwies sich Magermilch-Agar, vor allem in verdünnter Form mit Zusatz von Mineralsalzen und Hornmehl, als besonders geeignet. Sporangienbildung ließ sich insbesondere auf verdünntem Milchagar, auf Säugerhaaren in Mineralsalzlösung mit Zusatz von Casamino Acids und auf Haaren in Wasser über sterilisierter Erde erreichen.

Die Isolate gliedern sich in zwei leicht unterscheidbare Gruppen, die sowohl morphologisch als auch in ihren Koloniemerkmalen voneinander abweichen. Die größere besteht aus 45 Stämmen, deren Sporangiosporen ähnlich wie bei der Gattung *Ampullariella* in längsgerichteten parallelen Reihen angeordnet sind. Einer dieser Stämme hat schmale, lange, zylindrische Sporangien, wie sie bei *Pilimelia anulata* vorkommen. Die übrigen weisen breitere Sporangien auf und können - obgleich viele Sporangien nicht die der Artbeschreibung entsprechende Kugelform besitzen - als Vertreter von *Pilimelia terevasa* angesehen werden. Beim Kultivieren auf nicht oder nur wenig verdünnten Milchnährböden zeichnen sich die Stämme dieser ersten Gruppe durch raschwüchsige, aber kaum in den Agar eindringende, unregelmäßig wulstige Kolonien von weicher Konsistenz aus, die blaß gelb, bräunlich gelb oder gelb bis goldgelb gefärbt sind.

Die zweite, aus 25 Isolaten bestehende Gruppe wird von Stämmen gebildet, deren Sporangien eine Columella aufweisen. Die Kolonien dieser Isolate erreichen nur einen Durchmesser von wenigen Millimetern, sind von fester Konsistenz und haben meist eine schuppig-warzige Oberfläche. Bei einigen Stämmen sind sie farblos bis blaß bräunlich, bei der Mehrzahl jedoch goldgelb bis gelborange gefärbt. Da sich die Vertreter dieser zweiten Gruppe in den genannten Merkmalen, insbesondere der Columella, von den bestehenden Arten deutlich unterscheiden, werden sie unter dem Namen *Pilimelia columellifera* als neue Art beschrieben. Die fünf Isolate mit farblosen bis blaß bräunlichen Kolonien werden als Varietät (var. *pallida*) dieser neuen Art betrachtet.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß die stäbchenförmigen Sporen ein lateral angeheftetes Geißelbündel tragen. Der gleiche Begeißelungstyp ließ sich - im Gegensatz zu den Befunden von KANE - auch bei Stämmen der Art *Pilimelia terevasa* feststellen.

Die geprüften physiologischen Eigenschaften sind einerseits bei beiden Gruppen ähnlich, andererseits innerhalb der Gruppen häufig nicht einheitlich, so daß sie zur Artentrennung kaum verwendbar sein dürften.

Angehörige der Gattung Planomonospora konnten nur dreimal isoliert werden. Sie fanden sich auf Pollen in den Köderansätzen von drei verschiedenen Erdproben, in einem Fall außerdem auch auf der entsprechenden Ausstrichplatte. Die drei Isolate lassen sich auf Grund ihrer charakteristischen mikromorphologischen Merkmale den beiden Arten *Planomonospora parontospora* (1 Stamm) und *P. venezuelensis* (2 Stämme) zuordnen. Während der erstgenannte Stamm auch in seinen Kulturmerkmalen weitgehend mit der Diagnose übereinstimmt, zeigen die beiden anderen, morphologisch mit *P. venezuelensis* identischen Isolate in der Koloniefärbung Abweichungen von den Angaben der Beschreibung.

Die Gattung Spirillospora kommt unter den Isolaten fünfmal vor. Drei Stämme gehören zur Gruppe der Pollenisolate, zwei wurden mit Keratin geködert. Morphologisch gleichen sich die Stämme weitgehend, in den Kulturmerkmalen weichen die Pollenisolate jedoch erheblich von den keratingeködeten Stämmen ab. Erstere stimmen gut mit dem Typusstamm und der Diagnose von Spirillospora albida überein, so daß sie als Vertreter dieser Art angesehen werden müssen. Die beiden mit Keratin angereicherten Isolate unterscheiden sich von dieser Art vor allem durch rotes Substratmycel, langsames Wachstum und spärliche, meist erst nach langer Kulturdauer und nur auf bestimmten Nährböden einsetzende Luftmycelbildung. Sie werden unter der Bezeichnung Spirillospora rubra als neue Art dieser bisher monotypischen Gattung beschrieben.

Zur Gattung Streptosporangium gehören 159 der 161 Isolate, die durch Probenausstrich auf Agarplatten angereichert wurden. Mit Pollen und Keratin konnten keine Streptosporangium-Stämme geködert werden. Die Isolate weichen morphologisch nicht wesentlich voneinander ab. Alle bilden ein deutlich entwickeltes Luftmycel mit kugeligen Sporangien, deren Durchmesser geringer als $20\ \mu$ ist. Die Sporangiosporen variieren zum Teil in Größe und Form bei ein und demselben Stamm, wie elektronenmikroskopische Untersuchungen an 67 Isolaten und 5 Vergleichsstämmen ergaben, sind aber insgesamt auch bei verschiedenen Arten so ähnlich, daß sie kaum zur Differenzierung verwendet werden können. Lediglich bei den Stämmen von Streptosporangium longisporum stellen die zahlreichen stäbchenförmigen Sporen ein brauchbares taxonomisches Merkmal dar. Die Charakterisierung und Zuordnung der übrigen Isolate mußte mit Hilfe von Kulturmerkmalen und physiologischen Eigenschaften versucht werden.

Als im allgemeinen leicht und sicher erkennbar erwiesen sich dabei die Vertreter der Arten Streptosporo-

r a n g i u m a m e t h y s t o g e n e s (5 Stämme),
S . r o s e u m (47 Stämme) und *S . r u b r u m*
(25 Stämme). Die Zuordnung erfolgte bei der erstgenannten
Art auf Grund der Jodininbildung, bei *S . r o s e u m*
auf Grund des purpurfarbenen substratlöslichen Pigmentes
und bei *S . r u b r u m* auf Grund des weinroten
Substratmycels. Die so als Stämme gleicher Artenzugehö-
rigkeit zusammengefaßten Isolate stimmen in ihren übrigen
Kulturmerkmalen ebenfalls gut überein und weisen auch im
wesentlichen gleiche physiologische Eigenschaften auf.

Schwieriger war die Identifizierung der restlichen Isola-
te. Sie ließen sich nur zum Teil und meist auch nicht mit
eindeutiger Sicherheit bekannten Arten zuordnen. Einer
dieser Stämme gehört zur Art *S t r e p t o s p o r a n -*
g i u m a l b u m, fünf andere zeigen Ähnlichkeit mit
S . v u l g a r e, und eine Reihe weiterer Isolate
stimmt in der Kolonieform, zum Teil auch in den physiolo-
gischen Eigenschaften, mit *S . r o s e u m* überein,
ruft aber nicht die charakteristische Verfärbung des Nähr-
bodens hervor.

Ogleich sich eine Anzahl von Stämmen nicht einordnen
läßt, wird von einer Beschreibung neuer Arten abgesehen,
da vermieden werden soll, daß die Gattung noch unüber-
sichtlicher wird. Es scheint vielmehr notwendig, die Arten
weiter zu fassen, als dies zum Teil bisher geschehen ist,
und für eine größere Schwankungsbreite der Merkmale Raum
zu lassen.

Auf ihre physiologischen Eigenschaften wurden 68 der
S t r e p t o s p o r a n g i u m - Isolate genauer unter-
sucht. Die Bildung melanoider Pigmente ließ sich bei kei-
nem dieser Stämme nachweisen.- Casein wurde von allen pep-
tonisiert.- Zur Gelatineverflüssigung waren nur drei Iso-
late nicht befähigt: zwei von drei Stämmen der Art *S .*
a m e t h y s t o g e n e s und ein zu *S . r o -*
s e u m gestellter Stamm.- Die Mehrzahl der Isolate, un-
ter ihnen alle Vertreter der Arten *S . r o s e u m*
und *S . r u b r u m*, löste Tyrosinkristalle im

Nährboden auf; nicht einheitlich verhielten sich die *S. amethystogenes* - Stämme und die der Art *S. vulgare* nahestehenden Isolate.- Starke Nitritbildung aus Nitrat ließ sich bei allen Stämmen der Art *S. roseum* nachweisen; nicht reduzierend waren die Isolate der Arten *S. amethystogenes* und *S. rubrum*. - Bei 37°C wuchsen die meisten Stämme mit Ausnahme von *S. rubrum* und einigen anderen Isolaten noch mäßig bis gut, bei 42°C fand kein Wachstum mehr statt.- Auf vitaminfreiem synthetischem Nährboden entwickelten sich nur Isolate der Art *S. rubrum* gleich gut wie auf dem entsprechenden Medium mit Zusatz von Hefeextrakt.- Kochsalzkonzentrationen von 3 % vertrugen *S. amethystogenes*, *S. rubrum* und einige andere Isolate nicht mehr; bei einer Konzentration von 4 % wuchsen nur noch die fünf Stämme, die teilweise mit *S. vulgare* übereinstimmen.- Stärke wurde lediglich von vier Isolaten nicht abgebaut.- Zum Celluloseabbau war mehr als die Hälfte der Stämme befähigt; artgleiche Isolate verhielten sich jedoch nicht einheitlich, so daß der taxonomische Wert dieses Merkmals gering sein dürfte.

Unter den mitgetesteten Vergleichsstämmen fiel KCC A-0053 (= *Streptosporangium indianensis*) durch stark abweichende Eigenschaften auf. Der Stamm bildet Melanin, wächst noch bei 42°C, läßt sich gut auf synthetischen Medien kultivieren und verträgt NaCl-Konzentrationen von 10 %. Sein Luftmycel weist zahlreiche gekrümmte und geknäuelte Konidienketten auf, die zum Teil sporangienähnlich aussehen. Da echte, mit einer Wand ausgestattete Sporangien nicht gefunden werden konnten, dürfte es sich bei diesem Stamm, auf den die Beschreibung von *S. indianensis* im übrigen weitgehend zutrifft, um einen Vertreter der Gattung *Streptomyces* handeln. *Streptosporangium indianensis* wäre folglich - sofern keine Stammverwechslung vorliegt - als Streptomycet anzusehen.

Vier der sechs gefundenen Gattungen - *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Pilimelia* und *Streptosporangium* - sind unter den Isolaten aus einheimischen Böden vertreten. Aus den 107 in Deutschland gesammelten Proben konnten mit Pollen und Keratin sowie durch Ausstrich auf Agarplatten Actinoplanaceen in prozentual ähnlicher Häufigkeit angereichert werden wie aus den übrigen Proben. Isoliert wurden 73 Stämme der Gattung *Actinoplanes*, 10 Stämme der Gattung *Ampullariella*, 13 Stämme der Gattung *Pilimelia* und 42 Stämme der Gattung *Streptosporangium*. Die p_H -Werte der entsprechenden Bodenproben lagen für die *Streptosporangium*-Isolate zwischen 4,6 und 8,0, für die Isolate der Gattungen *Actinoplanes* und *Ampullariella* zwischen 5,1 und 8,5 und für die der Gattung *Pilimelia* zwischen 6,3 und 8,5.

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- BALDACCI, E. und R. LOCCI: Micromorphology of Actinomycetales and their genera arrangement.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 419 - 424.
- BECKER, B., M.P. LECHEVALIER und H.A. LECHEVALIER: Chemical composition of cell-wall preparations from strains of various form-genera of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol. 13, 236 - 243 (1965).
- BLAND, C.E.: Ultrastructure of Pilimelia anulata (Actinoplanaceae). Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 84, 8 - 15 (1968).
- Fine structure of the motile cells and flagella in a member of the Actinoplanaceae (Actinomycetales). Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67, 1550 - 1557 (1970).
- BLAND, C.E. und J.N. COUCH: Observations on the chromatinic bodies of two species of the Actinoplanaceae. J. gen. Microbiol. 22, 95 - 100 (1968).
- BREED, R.S., E.G.D. MURRAY und N.R. SMITH (Hrsg.): Bergey's manual of determinative bacteriology. 7. Aufl. Baltimore: Williams & Wilkins 1957.
- COUCH, J.N.: Technic for collection, isolation and culture of chytrids. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 55, 208 - 214 (1939).
- A new group of organisms related to Actinomyces. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 65, 315 - 318 (1949).
 - Actinoplanes, a new genus of the Actinomycetales. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 66, 87 - 92 (1950).
 - The genus Actinoplanes and its relatives. Trans. New York Acad. Sci. 16, 315 - 318 (1954).
 - A new genus and family of the Actinomycetales, with a revision of the genus Actinoplanes. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 71, 148 - 155 (1955 a).
 - Actinosporangiaceae should be Actinoplanaceae. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 71, 269 (1955 b).
 - Some new genera and species of the Actinoplanaceae. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 79, 54 - 70 (1963).
 - The name Ampullaria COUCH has been replaced by Ampullariella. Intern. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 14, 137 (1964).

- COUCH, J.N. und W.J. KOCH: Induction of motility in the spores of some Actinoplanaceae (Actinomycetales). Science 138, 987 (1962).
- CROSS, T., M.P. LECHEVALIER und H. LECHEVALIER: A new genus of the Actinomycetales: Microellobosporia gen. nov. J. gen. Microbiol. 31, 421 - 429 (1963).
- DOMNAS, A.: Pigments of the Actinoplanaceae. I. Pigment production by Spirillospora = 1655. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 84, 16 - 23 (1968).
- Pigment production in the Actinoplanaceae as affected by cultural conditions.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 259 - 263.
- EMERSON, R.: Mycological organization. Mycologia 50, 589 - 621 (1958).
- FALCAO DE MORAIS, J.O., A. CHAVES BATISTA und D.M.G. MASSA: Elytrosporangium: a new genus of the Actinomycetales. Mycopath. Mycol. Appl. 30, 161 - 171 (1966).
- FLAIG, W., E. KÜSTER, H. BEUTELSPACHER, I. SCHLICHTING-BAUER, W. POLITT-RUNGE und R. KURZ: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Sporen verschiedener Streptomycceten. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 108, 376 - 382 (1955).
- FURUMAI, T., H. OGAWA und T. OKUDA: Taxonomic study on Streptosporangium albidum nov. sp. J. Antibiotics 21, 179-181 (1968).
- GAERTNER, A.: Über zwei ungewöhnliche keratinophile Organismen aus Ackerböden. Arch. Mikrobiol. 23, 28 - 37 (1955).
- GAUZE, G.F., T.P. PREOBRAZHenskAYA, L.P. IVANITSKAYA und M.A. SVESHNIKOVA: Production of an antibiotic Sibiromycin by Streptosporangium sibiricum sp. nov. (russisch). Antibiotiki 14, 963 - 969 (1969).
- GLAUERT, A.M. und D.A. HOPWOOD: The fine structure of Streptomyces violaceoruber (S. coelicolor). III. The walls of the mycelium and spores. J. Biophys. Biochem. Cytol. 10, 505 - 516 (1961).
- GORDON, R.E. und M.M. SMITH: Proposed group of characters for the separation of Streptomyces and Nocardia. J. Bacteriol. 69, 147 - 150 (1955).
- GOTTLIEB, D.: An evaluation of criteria and procedures used in the description and characterization of the streptomycetes. Appl. Microbiol. 2, 55 - 65 (1961).

- GOTTLIEB, D. und E.B. SHIRLING: Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. I. The International *Streptomyces* Project. Intern. J. Syst. Bacteriol. 17, 315 - 322 (1967).
- - An analysis of species groups among *Streptomyces*. - In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 67 - 77.
- GUPTA, K.C.: A new species of the genus *Streptosporangium* isolated from Indian soil. J. Antibiotics, Ser. A 18, 125 - 127 (1965).
- HANSEN, H.N. und W.C. SNYDER: Gaseous sterilization of biological materials for use as culture media. Phytopathology 37, 369 - 371 (1947).
- HENSSSEN, A.: Beiträge zur Morphologie und Systematik der thermophilen Actinomyceten. Arch. Mikrobiol. 26, 373 - 414 (1957).
- HENSSSEN, A. und E. SCHNEPF: Zur Kenntnis thermophiler Actinomyceten. Arch. Mikrobiol. 57, 214 - 231 (1967).
- HIGGINS, M.L.: Release of sporangiospores by a strain of *Actinoplanes*. J. Bacteriol. 94, 495 - 498 (1967).
- HIGGINS, M.L., M.P. LECHEVALIER und H.A. LECHEVALIER: Flagellated actinomycetes. J. Bacteriol. 93, 1446 - 1451 (1967).
- HÜTTLER, R.: Systematik der Streptomyceten unter besonderer Berücksichtigung der von ihnen gebildeten Antibiotica. Bibliotheca Microbiologica, Fasc. 6. Basel - New York: S. Karger 1967.
- JANKE, A., R. DICKSCHEIT: Handbuch der mikrobiologischen Laboratoriumstechnik. 2. Aufl. Dresden: Steinkopff 1969.
- JENSEN, H.L.: The genus *Micromonospora* ØRSKOV, a little known group of soil microorganisms. Proc. Linnean Soc. New South Wales 55, 231 - 249 (1930).
- JOHANSON, A.E.: A new mycelioid chytrid: *Myceliochytrium fulgens* gen. nov. et sp. nov. Torreyia 45, 104 - 105 (1945).
- JONES, L.A. und BRADLEY, S.G.: Relationships among streptomycetes, nocardiae, mycobacteria and other actinomycetes. Mycologia 56, 505 - 513 (1964).
- KALAKUTSKII, L.V., I.P. KIRILLOVA und N.A. KRASSILNIKOV: A new genus of the Actinomycetales - *Intrasporangium* gen. nov. J. gen. Microbiol. 48, 79 - 85 (1967).

- KALAKUTSKII, L.V. und V.D. KUZNETSOV: A new species of the genus *Actinoplanes* COUCH, *Actinoplanes armeniacus* n. sp., and some peculiarities of its mode of spore formation. *Mikrobiologiya* 33, 613 - 621 (1964); *Microbiology* 33, 553 - 560 (1964).
- KANE, W.D.: A new genus of the Actinoplanaceae, *Pilimelia*, with a description of two species, *Pilimelia terevasa* and *Pilimelia anulata*. *Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc.* 82, 220 - 230 (1966).
- KANE HANTON, W.: Amorphosporangium (Actinoplanaceae): report of motility and additional characters. *J. gen. Microbiol.* 53, 317 - 320 (1968).
- KARLING, J.S.: An unusual keratinophilic microorganism. *Proc. Indiana Acad. Sci.* 63, 83 - 86 (1954).
- KLIENEBERGER-NOBEL, E.: The life cycle of sporing Actinomyces as revealed by a study of their structure and septation. *J. gen. Microbiol.* 1, 22 - 32 (1947).
- KOCH, W.J.: Studies of the motile cells of chytrids. I. Electron microscope observations of the flagellum, blepharoplast and rhizoplast. *Amer. J. Bot.* 43, 811 - 819 (1956).
- KONEV, Yu.E., V.A. TSYGANOV, R. MINBAEV und V.M. MOROZOV: A new genus of the Actinomycetales: *Microechinospora* gen. nov. *Mikrobiologiya* 36, 309 - 317 (1967); *Microbiology* 36, 254 - 260 (1967).
- KRASSILNIKOV, N.A.: Systematic position of ray fungi among the lower organisms. *Hindustan Antibiotics Bulletin* 2, 1 - 17 (1964).
- Pigmentation of actinomycetes and its significance in taxonomy.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): *The Actinomycetales*. Jena 1970. S. 123 - 131.
- KUTZNER, H.J.: Beitrag zur Systematik und Ökologie der Gattung *Streptomyces* WAKSMAN et HENRICI. Dissertation, Stuttgart-Hohenheim 1956.
- KUZNETSOV, V.D.: Cultivation of members of the family Actinoplanaceae on plant pollen. *Mikrobiologiya* 38, 143 - 146 (1969); *Microbiology* 38, 118 - 120 (1969).
- LECHEVALIER, H.A.: Status of the generic names *Micropoly-spora* LECHEVALIER et al. 1961 and *Micropolispora* SHCHEPKINA 1940 (Actinomycetales). *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 18, 203 - 206 (1968).
- LECHEVALIER, H. und P.E. HOLBERT: Electron microscopic observation of the sporangial structure of a strain of *Actinoplanes*. *J. Bacteriol.* 89, 217 - 222 (1965).

- LECHEVALIER, H.A. und M.P. LECHEVALIER: Biology of actinomycetes. Ann. Rev. Microbiol. 21, 71 - 100 (1967).
- - Ultramicroscopic structure of Intrasporangium calvum (Actinomycetales). J. Bacteriol. 100, 522 - 525 (1969).
 - - A critical evaluation of the genera of aerobic actinomycetes.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 393 - 405 (1970 a).
- LECHEVALIER, M.P. und H. LECHEVALIER: Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. Intern. J. Syst. Bacteriol. 20, 435 - 443 (1970 b).
- LECHEVALIER, H.A., M.P. LECHEVALIER und P.E. HOLBERT: Electron microscopic observation of the sporangial structure of strains of Actinoplanaceae. J. Bacteriol. 92, 1228 - 1235 (1966).
- LIESKE, R.: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze (Actinomyceten). Leipzig: Borntraeger 1921.
- LINDENBEIN, W.: Über einige chemisch interessante Aktinomyccetenstämme und ihre Klassifizierung. Arch. Mikrobiol. 17, 361 - 383 (1952).
- LINGAPPA, Y. und J.L. LOCKWOOD: A chitin medium for isolation, growth and maintenance of actinomycetes. Nature 189, 158 - 159 (1961).
- LOGGI, R. und B. PETROLINI BALDAN: On the spore formation process in actinomycetes. V. Scanning electron microscopy of some genera of Actinoplanaceae. Riv. Pat. Veg., S. IV, 7 Suppl., 81 - 96 (1971).
- MANACHINI, P.L., A. FERRARI und R. CRAVERI: Forme termofile di Actinoplanaceae. Isolamento e caratteristiche di Streptosporangium album var. thermophilum. Ann. Microbiol. Enzimol. 15, 129 - 144 (1965).
- MATSUMAE, A., M. OHTANI, H. TAKESHIMA und T. HATA: A new genus of the Actinomycetales: Kitasatoa gen. nov. J. Antibiotics 21, 616 - 625 (1968).
- McINNIS, T.M.jr. und A. DOMNAS: Pigments of the Actinoplanaceae. III. A spirillomycin-type pigment from Spirillospora 1309-b. Ztschr. Allg. Mikrobiol. 10, 129 - 136 (1970).
- MILLER, C.E. und J.N. COUCH: Lyophilization of the Actinoplanaceae. Mycologia 51, 146 - 150 (1959).
- MÜLLER, J. und MELCHINGER, H.: Methoden der Mikrobiologie. Stuttgart: Franckh 1964.

- NONOMURA, H. und Y. OHARA: Distribution of the actinomycetes in soil. (V). The isolation and classification of the genus *Streptosporangium*. J. Ferment. Technol. 38, 405 - 409 (1960).
- - Distribution of actinomycetes in soil. (VI). A culture method effective for both preferential isolation and enumeration of *Microbispora* and *Streptosporangium* strains in soil (part I). J. Ferment. Technol. 47, 463 - 469 (1969 a).
 - - Distribution of actinomycetes in soil. (VII). A culture method effective for both of preferential isolation and enumeration of *Microbispora* and *Streptosporangium* strains in soil. (Part 2). Classification of the isolates. J. Ferment. Technol. 47, 701 - 709 (1969 b).
- OKUDA, T., T. FURUMAI, E. WATANABE, Y. OKUGAWA und S. KIMURA: Actinoplanaceae antibiotics. II. Studies on sporaviridin. 2. Taxonomic study on the sporaviridin-producing microorganism, *Streptosporangium viridigriseum* nov. sp. J. Antibiotics, Ser. A 19, 121 - 127 (1966).
- OKUDA, T., Y. ITO, T. YAMAGUCHI, T. FURUMAI, M. SUZUKI und M. TSURUOKA: Sporaviridin, a new antibiotic produced by *Streptosporangium viridigriseum* nov. sp. J. Antibiotics, Ser. A 19, 85 - 87 (1966).
- ØRSKOV, J.: Investigations into the morphology of the ray fungi. Kopenhagen: Levin & Munksgaard 1923.
- PERKINS, H.R.: 2,6-Diamino-3-hydroxypimelic acid in microbial cell wall mucopeptide. Nature 203, 872 - 873 (1965).
- POTEKHINA, L.I.: *Streptosporangium rubrum* n. sp. - A new species of the *Streptosporangium* genus. Mikrobiologiya 34, 292 - 299 (1965); Microbiology 34, 245 - 250 (1965)
- PRAUSER, H.: DAP-freie, gelbe Actinomyceten mit Tendenz zur Beweglichkeit. Ztschr. Allg. Mikrobiol. 7, 81 - 83 (1967).
- Characters and genera arrangement in the Actinomycetales.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 407 - 418.
 - (Hrsg.): The Actinomycetales. The Jena international symposium on taxonomy. September 1968. Jena: Fischer 1970.
- PRAUSER, H. und K. ECKARDT: Bildung von 1,6-Dihydroxyphenazin-5,10-dioxid durch *Streptosporangium amethystogenes* var. *nonreducens* var. nov. Ztschr. Allg. Mikrobiol. 7, 409 - 410 (1967).

- PRAUSER, H. und R. FALTA: Phagensensibilität, Zellwand-Zusammensetzung und Taxonomie von Actinomyceten. Ztschr. Allg. Mikrobiol. 8, 39 - 46 (1968).
- PRAUSER, H., L. MÜLLER und R. FALTA: On the taxonomic position of the genus Microellobosporia CROSS, LECHEVALIER and LECHEVALIER 1963. Intern. J. Syst. Bacteriol. 17, 361 - 366 (1967).
- RANCOURT, M. und H.A. LECHEVALIER: Electron microscopic observation of the sporangial structure of an actinomycete, Microellobosporia flavea. J. gen. Microbiol. 31, 495 - 498 (1963).
- - Electron microscopic study of the formation of spiny conidia in species of Streptomyces. Can. J. Microbiol. 10, 311 - 316 (1964).
- ROTHWELL, F.M.: A further study of Karling's keratinophilic organism. Mycologia 49, 68 - 72 (1957).
- SCHÄFER, D.: Eine neue Streptosporangium-Art aus türkischer Steppenerde. Arch. Mikrobiol. 66, 365 - 373 (1969).
- SCHLEGEL, H.G.: Allgemeine Mikrobiologie. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme 1972.
- SCHCHEPKINA, T.V.: Beschreibung von Endoparasiten von Baumwollfasern (russisch). Bull. Acad. Sci. U.S.S.R. Classe Sci. Biol. 5, 643 - 661 (1940) (zitiert nach LECHEVALIER, 1968).
- SHIRLING, E.B. und D. GOTTLIEB: Methods for characterization of Streptomyces species. Intern. J. Syst. Bacteriol. 16, 313 - 340 (1966).
- - Report of the International Streptomyces Project. Five years of collaborative research.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 79 - 89.
- SKINNER, F.A.: Inhibition of the growth of fungi by Streptomyces spp. in relation to nutrient conditions. J. gen. Microbiol. 14, 381 - 392 (1956).
- Society of American Bacteriologists: Manual of Microbiological Methods. New York - Toronto - London: McGraw-Hill 1957.
- STAPP, C.: Untersuchungen über Aktinomyzeten des Bodens. I. Mitteilung. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 107, 129 - 150 (1953).
- SZANISZLO, P.J.: The nature of the intramycelial pigmentation of some Actinoplanaceae. Jour. Elisha Mitchell Sci. Soc. 84, 24 - 26 (1968).

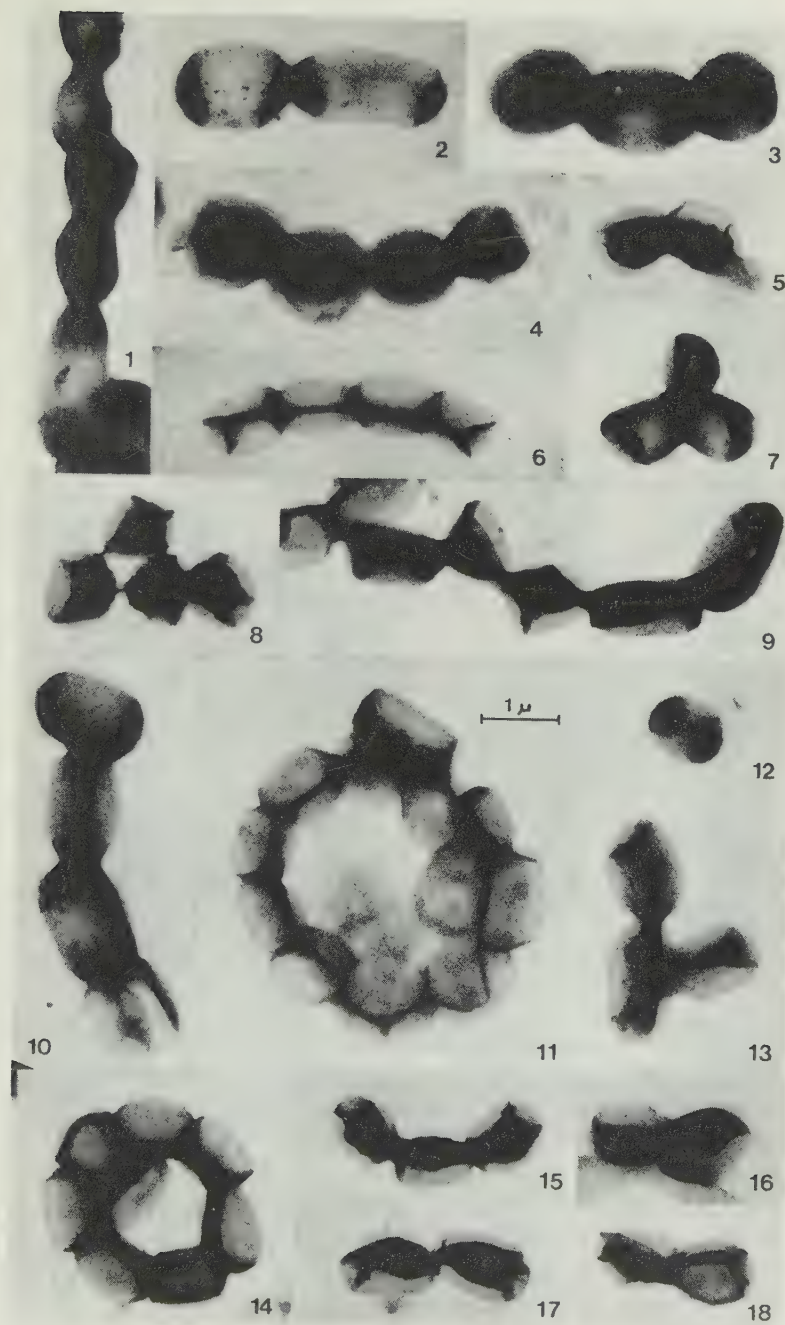
- SZANISZLO, P.J. und H. GOODER: Cell wall composition in relation to the taxonomy of some Actinoplanaceae. J. Bacteriol. 94, 2037 - 2047 (1967).
- TABER, W.A.: Evidence for the existence of acid-sensitive actinomycetes in soil. Can. J. Microbiol. 6, 503 - 514 (1960).
- TAMURA, A., I. TAKEDA, S. NARUTO und Y. YOSHIMURA: Chloramphenicol from Streptosporangium viridogriseum var. kofuense. J. Antibiotics 24, 270 (1971).
- THIEMANN, J.E.: A new species of the genus Amorphosporangium isolated from Italian soil. Mycopathol. Mycol. Appl. 32, 233 - 240 (1967).
- Study of some new genera and species of the Actinoplanaceae.- In: PRAUSER, H. (Hrsg.): The Actinomycetales. Jena 1970. S. 245 - 257.
- THIEMANN, J.E. und G. BERETTA: A new genus of the Actinoplanaceae: Planobispora, gen. nov. Arch. Mikrobiol. 62, 157 - 166 (1968).
- THIEMANN, J.E., G. BERETTA, C. CORONELLI und H. PAGANI: Antibiotic production by new form-genera of the Actinomycetales. II. Antibiotic A/672 isolated from a new species of Actinoplanes: Actinoplanes brasiliensis nov. sp. J. Antibiotics 22, 119 - 125 (1969).
- THIEMANN, J.E., C. CORONELLI, H. PAGANI, G. BERETTA, G. TAMONI und V. ARIOLI: Antibiotic production by new form-genera of the Actinomycetales. I. Sporangiomycin, an antibacterial agent isolated from Planomonospora parontospora var. antibiotica var. nov. J. Antibiotics 21, 525 - 531 (1968).
- THIEMANN, J.E., H. PAGANI und G. BERETTA: A new genus of the Actinoplanaceae: Dactylosporangium, gen. nov. Arch. Mikrobiol. 58, 42 - 52 (1967 a).
- - - A new genus of the Actinoplanaceae: Planomonospora, gen. nov. Giorn. Microbiol. 15, 27 - 38 (1967 b).
 - - - A new genus of the Actinomycetales: Microtetraspora gen. nov. J. gen. Microbiol. 50, 295 - 303 (1968).
- TRESNER, H.D. und F. DANGA: Hydrogen sulfide production by Streptomyces as a criterion for species differentiation J. Bacteriol. 76, 239 - 244 (1958).
- TRESNER, H.D., J.A. HAYES und E.J. BACKUS: Differential tolerance of streptomycetes to sodium chloride as a taxonomic aid. Appl. Microbiol. 16, 1134 - 1136 (1968).

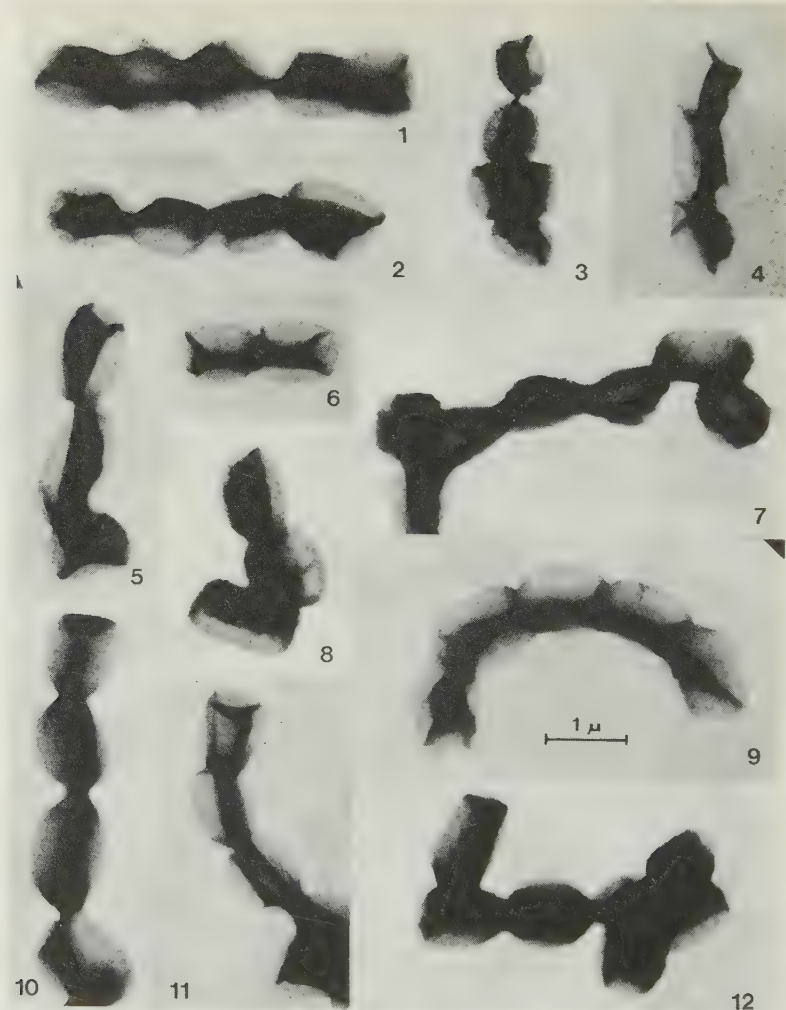
- TSYGANOV, V.A., R.A. ZHUKOVA und K.A. TIMOFEEVA: Eine neue Actinomyceten-Gattung, *Macrospora* gen. nov. (russisch). 3. wissenschaftliches Symposium des Institutes für Antibiotica in Leningrad (1963).
- VAN BRUMMELEN, J. und J.C. WENT: Streptosporangium isolated from forest litter in the Netherlands. *Antonie van Leeuwenhoek* 23, 385 - 392 (1957).
- WAKSMAN, S.A.: The Actinomycetes, vol. I. Baltimore: Williams & Wilkins 1959.
- The Actinomycetes, vol. II. Baltimore: Williams & Wilkins 1961.
 - The Actinomycetes. A summary of current knowledge. New York: Ronald Press 1967.
- WILLIAMS, S.T.: Further investigations of actinomycetes by scanning electron microscopy. *J. gen. Microbiol.* 62, 67 - 73 (1970).
- WILLOUGHBY, L.G.: A conidial Actinoplanes isolate from Blelham Tarn. *J. gen. Microbiol.* 44, 69 - 72 (1966).
- A study on aquatic actinomycetes. The allochthonous leaf component. *Nova Hedwigia* 18, 45 - 113 (1969 a).
 - A study of the aquatic actinomycetes of Blelham Tarn. *Hydrobiologia* 34, 465 - 483 (1969 b).
- WILLOUGHBY, L.G., C.D. BAKER und S.E. FOSTER: Sporangium formation in the Actinoplanaceae induced by humic acids. *Experientia* 24, 730 - 731 (1968).
- YAMAGUCHI, T.: Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J. Bacteriol.* 89, 444 - 453 (1965).
- ZENOVA, G.M.: Melanoid pigments of actinomycetes. *Mikrobiologiya* 34, 278 - 283 (1965); *Microbiology* 34, 234 - 238 (1965).
- Melanoid pigments of nonchromogenic actinomycetes. *Mikrobiologiya* 37, 454 - 459 (1968); *Microbiology* 37, 367 - 371 (1968).
- ZHUKOVA, R.A. und V.A. TSYGANOV: Comparative study of actinomycetes of the genera *Macrospora* and *Microellorosporia*. *Mikrobiologiya* 35, 833 - 840 (1966); *Microbiology* 35, 707 - 712 (1966).
- ZOPF, W.: Über einige niedere Algenpilze (Phycomyceten) und eine neue Methode ihre Keime aus dem Wasser zu isoliren. Halle: Niemeyer 1887.

ABBILDUNGEN

Tafel 1. Streptosporangium roseum, Sporen; elektronen-
mikroskopische Aufnahmen von 3 Monate alten Kulturen auf
Haferflocken-Hefe-Agar.

Abb.1. Stamm SS 3.- Abb.2. SS 4.- Abb.3. SS 5.- Abb. 4.
SS 6.- Abb.5. SS 9.- Abb.6. SS 8.- Abb.7. SS 10.- Abb.8.
SS 11.- Abb.9. SS 12.- Abb.10. SS 13.- Abb.11. SS 22.-
Abb.12. SS 19.- Abb.13. SS 34.- Abb.14. SS 41.- Abb.15.
SS 39.- Abb.16. SS 40.- Abb.17. SS 43.- Abb.18. SS 52.

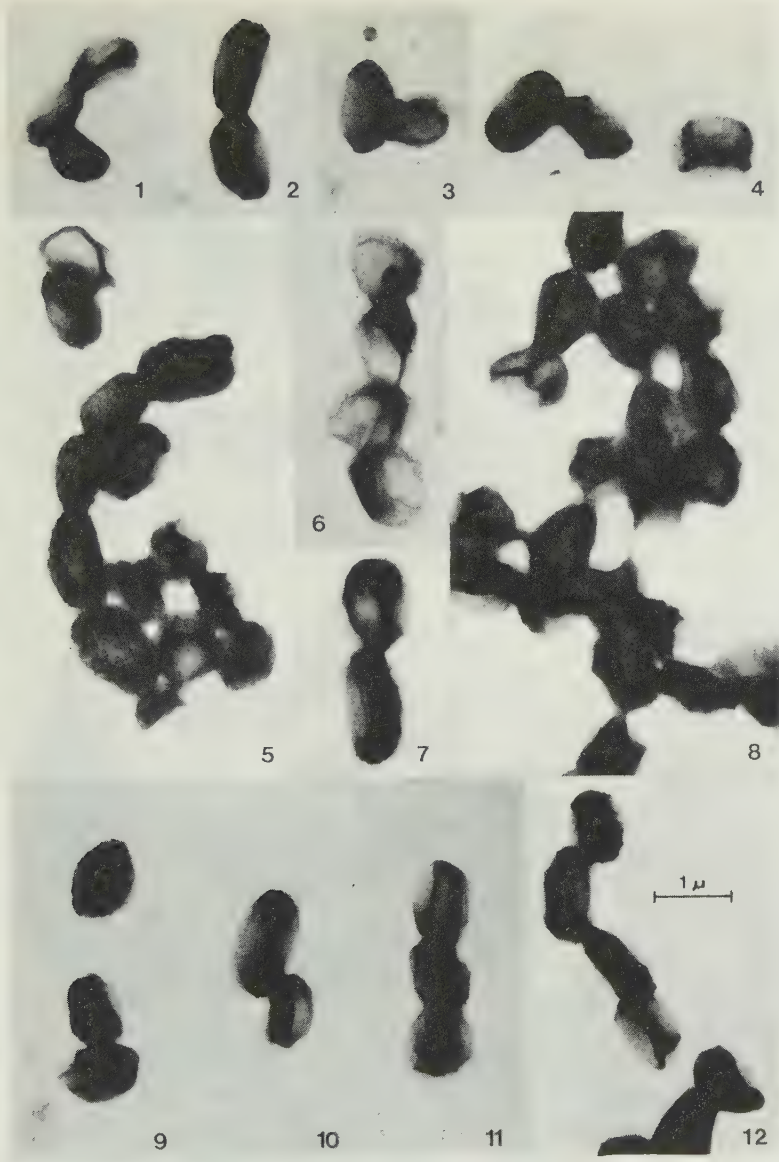




Tafel 2. *Streptosporangium roseum*, Sporen.

Abb.1-10. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von 3 Monate alten Kulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar.- Abb.11. 7 Wochen alte Kultur auf Mistagar.- Abb.12. 5 Wochen alte Kultur auf Haferflocken-Hefe-Agar.

Abb.1. Stamm SS 53.- Abb.2. SS 56.- Abb.3. SS 54.- Abb.4. SS 55.- Abb.5. SS 57.- Abb.6. SS 60.- Abb.7. SS 61.- Abb.8. SS 65.- Abb.9. SS 68.- Abb.10. SS 62.- Abb.11. SS 69.- Abb.12. Stamm 27 der Sammlung COUCH.



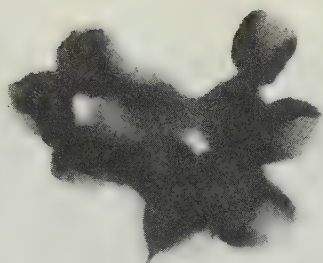
Tafel 3. Streptosporangium rubrum, Sporen.

3 Monate alte Kulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar.

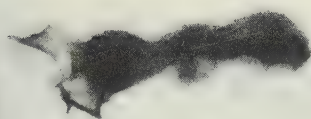
Abb.1. Stamm SS 2.- Abb.2. SS 15.- Abb.3. SS 16.- Abb.4. SS 18.- Abb.5. SS 25.- Abb.6. SS 27.- Abb.7. SS 29.- Abb. 8. SS 30.- Abb.9. SS 32.- Abb.10. SS 32.- Abb.11. SS 37.- Abb.12. SS 42.

Tafel 4. Streptosporangium, Sporen; elektronenmikroskopische Aufnahmen von Kulturen verschiedener Arten auf Mistagar und Haferflocken-Hefe-Agar.

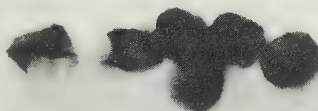
Abb.1 und 2. Streptosporangium amethystogenes, Stamm SS 1 (Abb.1) und Stamm SS 17 (Abb.2), 7 Wochen alte Kulturen auf Mistagar.- Abb.3. SS 45; Mistagar, 2 Monate.- Abb.4. SS 49; Mistagar, 2 Monate.- Abb.5. SS 51; Mistagar, 2 Monate.- Abb.6. SS 20; Haferflocken-Hefe-Agar, 3 Monate.- Abb.7. SS 21; Haferflocken-Hefe-Agar, 3 Monate.- Abb.8, 9 und 10. Streptosporangium longisporum, Stamm SS 66 (Abb.8 und 9; Mistagar, 2 Monate) und Stamm SS 67 (Abb. 10; Haferflocken-Hefe-Agar, 3 Monate).- Abb.11. SS 7; Haferflocken-Hefe-Agar, 3 Monate.



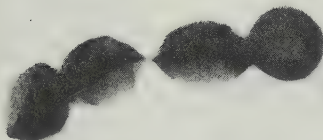
1



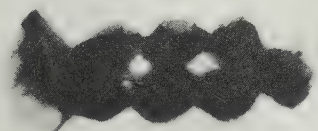
3



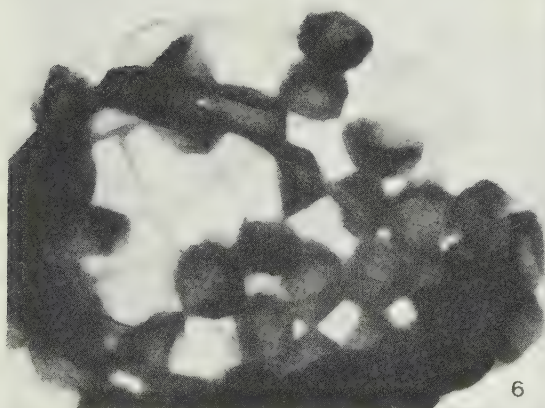
4



2



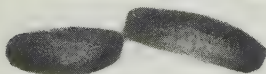
5



6



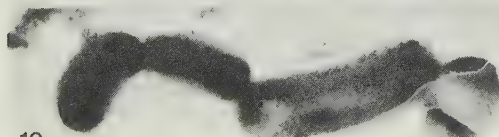
7



8



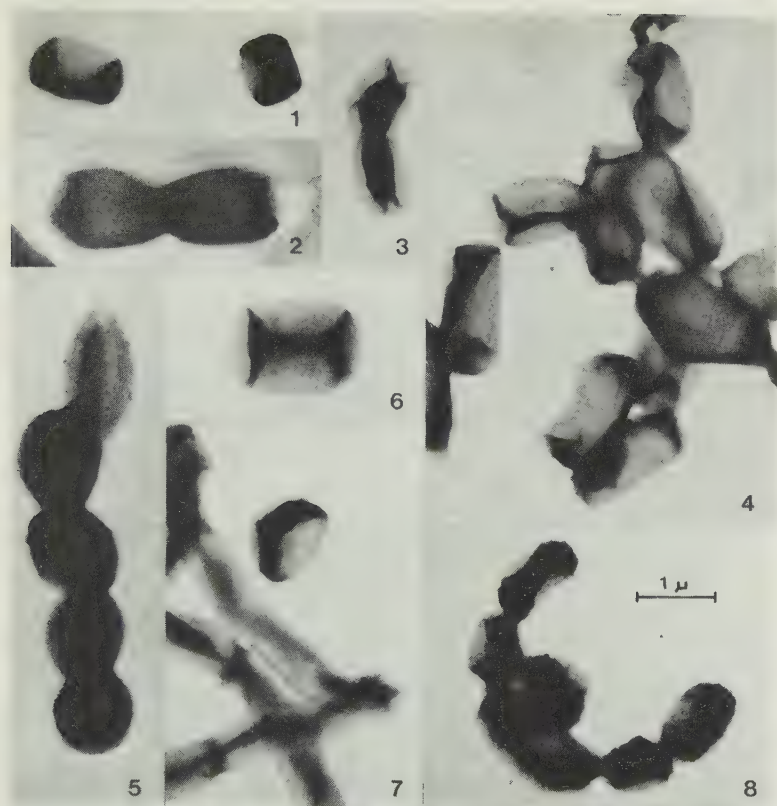
9



10



11



Tafel 5. Streptosporangium, Sporen; elektronenmikroskopische Aufnahmen von 3 Monate alten Kulturen verschiedener Stämme auf Hefe-Glucose-Erd-Agar (Abb. 5) und Haferflocken-Hefe-Agar (Abb. 1-4 und 6-8).

Abb.1. Stamm SS 14.- Abb.2. SS 24.- Abb.3. SS 31.- Abb.4. SS 28.- Abb.5. SS 63.- Abb.6 und 7. SS 35.- Abb.8. SS 38.

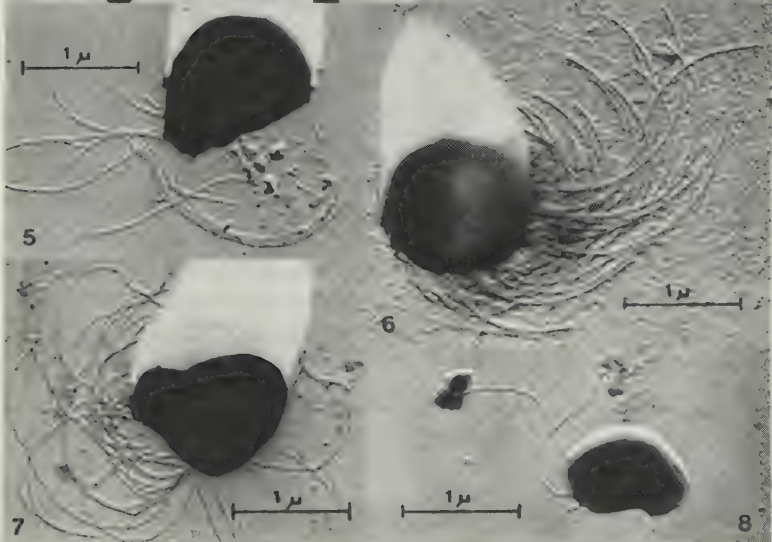
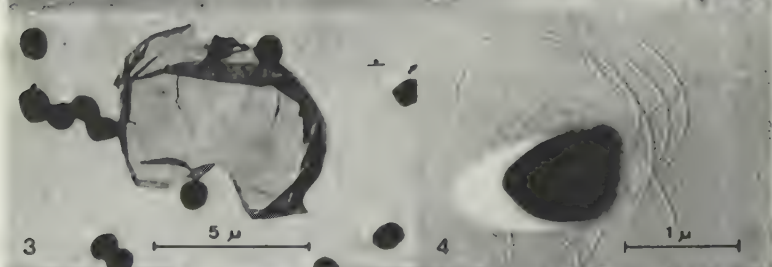
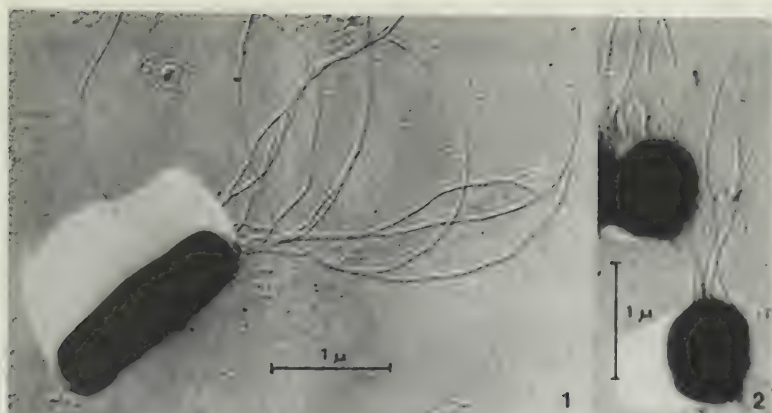
Tafel 6. Streptosporangium, Sporen. Stämme mit anders als rosa gefärbtem Luftmycel. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von 3 Monate alten Kulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar (Abb.1 und 3-11) sowie von 7 Wochen alten Kulturen auf Mistagar (Abb.2) und Hefe-Glucose-Mist-Agar (Abb.12).

Abb.1. Stamm SS 23.- Abb.2. Streptosporangium album, Stamm SS 26.- Abb.3. SS 33.- Abb.4. SS 36.- Abb.5 und 6. SS 46.- Abb.7. SS 47.- Abb.8. SS 48.- Abb.9. SS 64.- Abb.10. SS 50.- Abb.11. SS 64.- Abb.12. SS 58.



Tafel 8. Actinoplanes und Ampullariella, Zoosporen.
Präparate mit Osmiumtetroxid geräuchert und mit Gold-
Palladium im Winkel von 30° bedampft.

- Abb.1. Ampullariella regularis, Stamm SE 1; stäbchenförmige Spore, lophotrich begeißelt; aus 2 Wochen alter Kultur auf Liquidambar-Pollen in Wasser, geschwärmt in 0,1 %iger Hefeextrakt-Lösung.
- Abb.2 und 3. Actinoplanes, Stamm SB 6; aus 18 Tage alter Kultur auf halbkonzentriertem Casamino-Pepton-Czapek-Agar mit Zusatz von Gartenerde (CPC/2-E), geschwärmt in Wasser; Abb.3: Sporen und Teil der Sporangienwand.
- Abb.4. Actinoplanes, Stamm SA 20; aus 5 Monate alter Kultur auf Liquidambar-Pollen in Wasser, geschwärmt in Wasser.
- Abb.5. Actinoplanes, Stamm SB 18; aus 3 Wochen alter Kultur auf CPC/2-E-Agar, geschwärmt in Wasser.
- Abb.6. Actinoplanes, Stamm SB 33; kugelige Spore mit zahlreichen Geißeln; aus 2 Wochen alter Kultur auf Liquidambar-Pollen in Wasser, geschwärmt in Wasser.
- Abb.7. Actinoplanes, Stamm SB 36; aus 3 Wochen alter Kultur auf CPC/2-E-Agar, geschwärmt in Wasser.
- Abb.8. Actinoplanes, Stamm SB 45; kurz stäbchenförmige, leicht gekrümmte Spore; aus 18 Tage alter Kultur auf CPC/2-E-Agar, geschwärmt in Wasser.





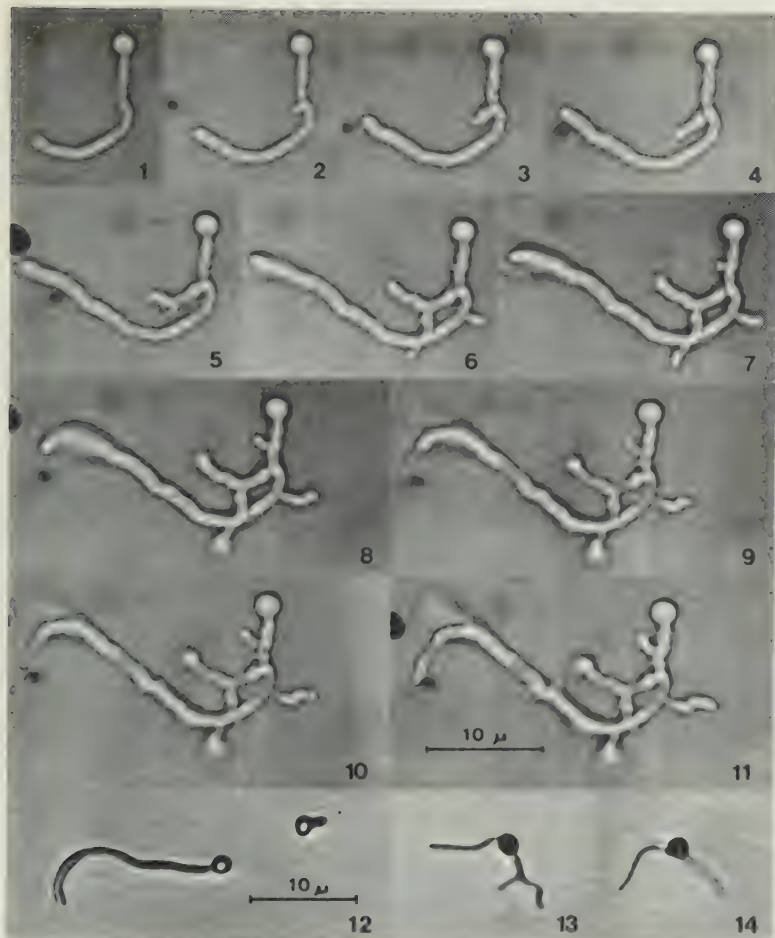
Tafel 9. Pilimelia, Zoosporen.

Unfixiert aufgetrocknet, mit Gold-Palladium im Winkel von 30° bedampft; Abb.2-6: aus 5-7 Wochen alten Kulturen auf verdünntem Milchagar (Ca/5-K), geschwärmt in Wasser.

Abb.1. *Pilimelia terevasa*, Stamm SK 14; aus 4-5 Wochen alter Kultur auf Haaren in Mistlösung, geschwärmt in Mineralsalzlösung mit Hefeextraktzusatz (KEH).

Abb.2 und 3. *Pilimelia terevasa*, Stamm SK 15.

Abb.4 bis 6. *Pilimelia*, Stamm SK 29; Abb.4 und 5: Sporen mit langem Geißelstrang; Abb.6: Detail von Abb.5, Endabschnitt des Geißelstranges.

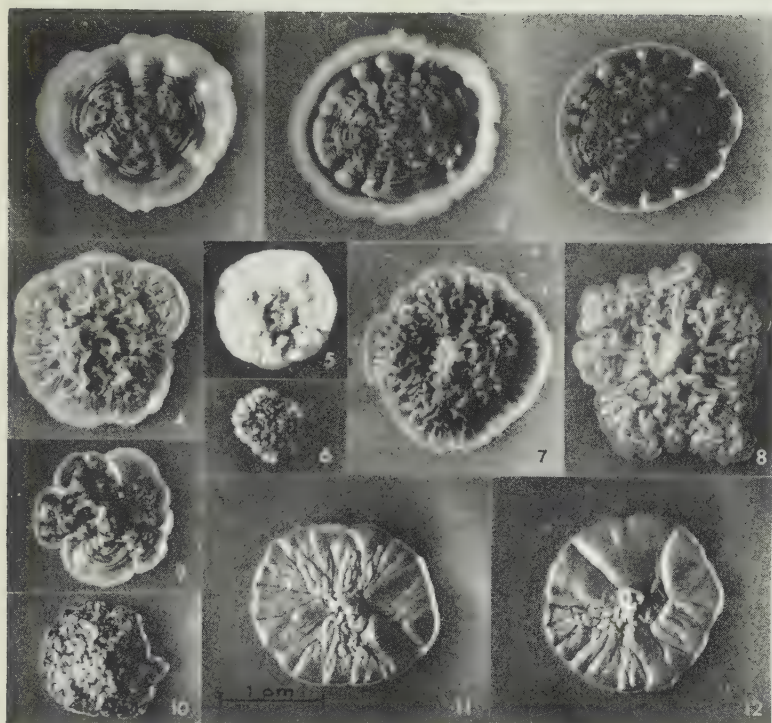


Tafel 10. Actinoplanes; Sporenkeimung, Mycelentwicklung.

Abb.1-11: Stamm SB 18, Intervallaufnahmen von 16 1/2 bis 46 Stunden alter Hängetrophenkultur (Erdekokt, 10 %), bebrütet bei 20° C. Abb.12-14: Stamm SA 7.

Abb.1. 16 1/2 Stunden nach Beimpfen des Hängetrophens.-
Abb.2. 18 3/4 Std.- Abb.3. 22 1/2 Std.- Abb.4. 25 1/2
Std.- Abb.5. 27 3/4 Std.- Abb.6. 31 1/2 Std.- Abb. 7.
37 Std.- Abb.8. 39 Std.- Abb.9. 42 1/4 Std.- Abb.10.
44 Std.- Abb.11. 46 Std.

Abb.12. Sporen von Stamm SA 7 mit - e i n e r Keimhyphye.
Abb.13 und 14. Sporen desselben Stammes mit zwei Keimhyphen.



Tafel 11. Actinoplanes und Ampullariella, Vergleichsstämme.
Kolonien auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar, 6-8 Wochen alt.

- | | | |
|--------------|---------------------------------|---------------|
| Abb. 1-3. | Actinoplanes philippinensis, | ATCC 12427 |
| Abb. 4. | Actinoplanes utahensis, | COUCH 260 |
| Abb. 5. | Actinoplanes armeniacus, | ATCC 15676 |
| Abb. 6. | Ampullariella digitata, | COUCH 33 |
| Abb. 7. | Ampullariella lobata, | ATCC 15350 |
| Abb. 8. | Amorphosporangium auranticolor, | KCC A-0038 |
| Abb. 9. | Ampullariella regularis, | C.B.S. 193.64 |
| Abb. 10. | Ampullariella campanulata, | C.B.S. 190.64 |
| Abb. 11, 12. | Actinoplanes missouriensis, | C.B.S. 188.64 |

Tafel 12. Actinoplanes und Ampullariella.

Verschiedene Kolonien gleicher Stämme. 7-9 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb. 1-3. Ampullariella regularis, Stamm SB 5

Abb. 4-6. Actinoplanes, Stamm SB 6

Abb. 7,8. Actinoplanes, Stamm SB 7

Abb. 9,10. Actinoplanes, Stamm SB 9

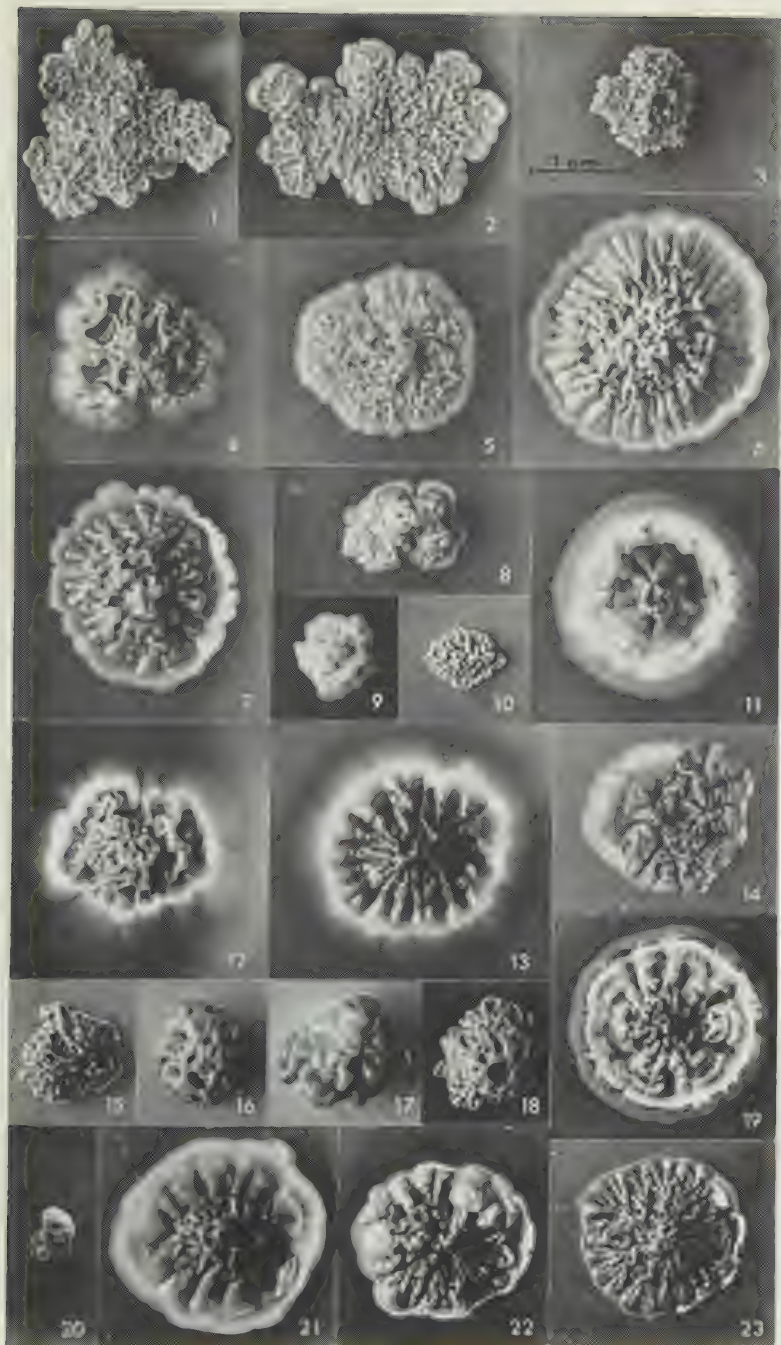
Abb.11,14,19,23. Actinoplanes, Stamm SB 14

Abb.12,13. Actinoplanes, Stamm SB 12

Abb.15,20. Stamm SB 16

Abb.16,17. Actinoplanes, Stamm SB 15

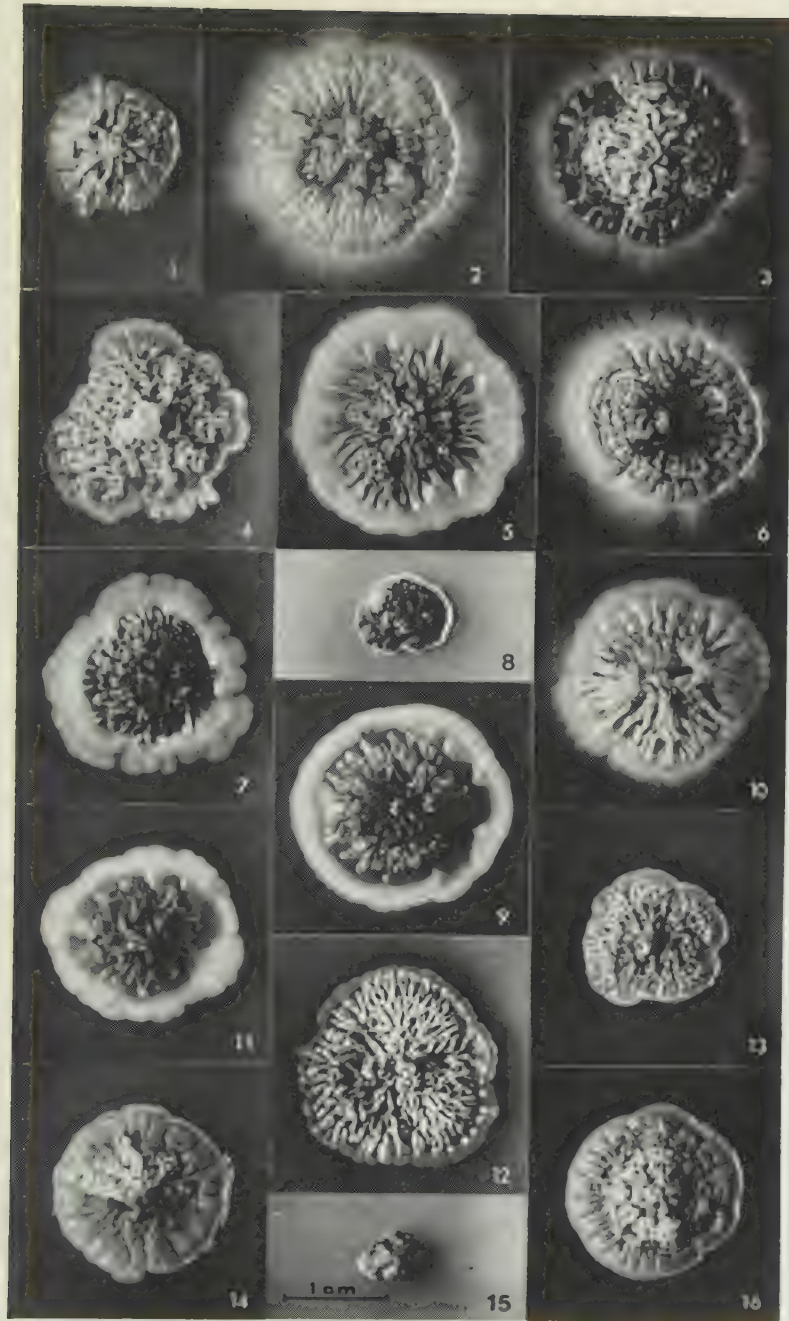
Abb.18,21,22. Actinoplanes, Stamm SB 49

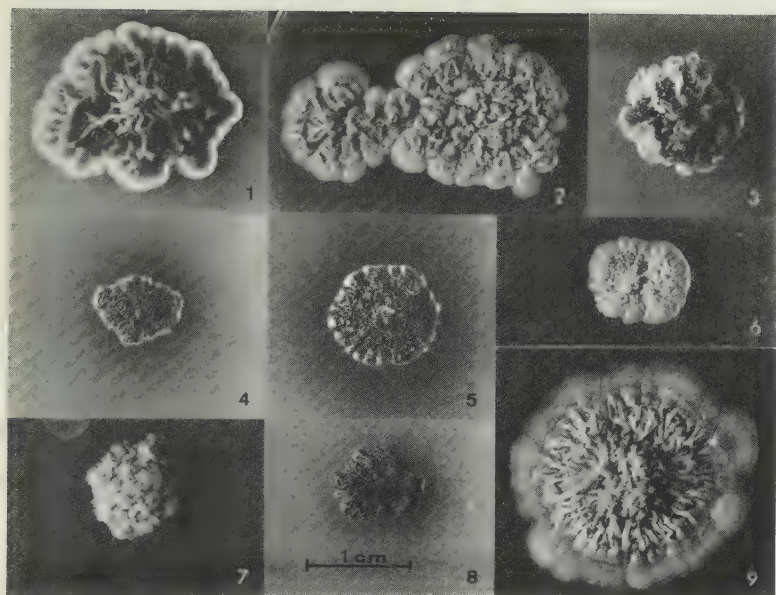


Tafel 13. Actinoplanes, Kolonien.

Stämme SA 1 bis SA 20 auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar,
7-9 Wochen alt.

Abb.1. Stamm SA 1.- Abb.2. SA 2.- Abb.3. SA 3.- Abb.4.
SA 5.- Abb.5. SA 6.- Abb.6. SA 7.- Abb.7. SA 8.- Abb.8.
SA 9.- Abb.9. SA 12.- Abb.10. SA 10.- Abb.11. SA 11.-
Abb.12. SA 15.- Abb.13. SA 13.- Abb.14. SA 14.- Abb.15.
SA 17.- Abb.16. SA 20.





Tafel 14. Actinoplanes und Ampullariella, Kolonien.

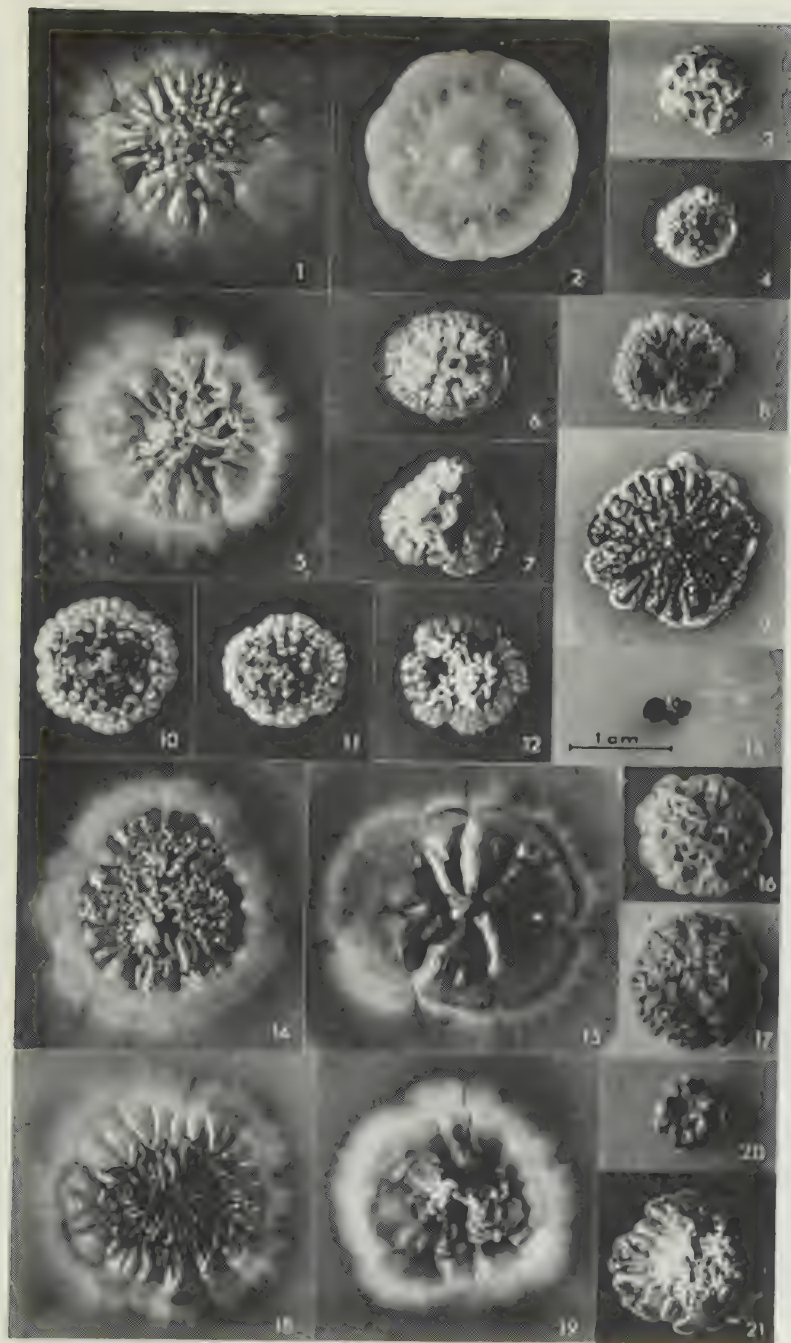
Stämme SA 21 bis SA 29; 7 bis 9 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Actinoplanes, Stamm SA 21.- Abb.2. Actinoplanes, SA 22.- Abb.3. Actinoplanes, SA 23.- Abb.4. Ampullariella digitata, SA 24.- Abb.5. Ampullariella digitata, SA 25.- Abb.6. Actinoplanes, SA 26.- Abb.7. Actinoplanes, SA 27.- Abb.8. Ampullariella digitata, SA 28.- Abb.9. Actinoplanes, SA 29.

Tafel 15. Actinoplanes und Ampullariella, Kolonien.
Stämme SB 1 bis SB 32; 7 bis 9 Wochen alte Kulturen auf
Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Actinoplanes, Stamm SB 1.- Abb.2. Ampullariella
regularis, SB 2.- Abb.3. Ampullariella, SB 3.- Abb.4.
Ampullariella, SB 4.- Abb.5. Actinoplanes, SB 8.- Abb.
6. Actinoplanes, SB 10.- Abb.7. Actinoplanes, SB 11.-
Abb.8. SB 17.- Abb.9. Actinoplanes, SB 18.- Abb. 10.
Actinoplanes, SB 19.- Abb.11. Actinoplanes, SB 20.-
Abb.12. Actinoplanes, SB 21.- Abb.13. Actinoplanes,
SB 22.- Abb.14. Actinoplanes, SB 23.- Abb.15. Actino-
planes, SB 24.- Abb.16. Actinoplanes, SB 29.- Abb.17.
Ampullariella digitata, SB 30.- Abb.18. Actinoplanes,
SB 25.- Abb.19. Actinoplanes, SB 27.- Abb.20. Ampul-
lariella digitata, SB 31.- Abb.21. Ampullariella digi-
tata, SB 32.

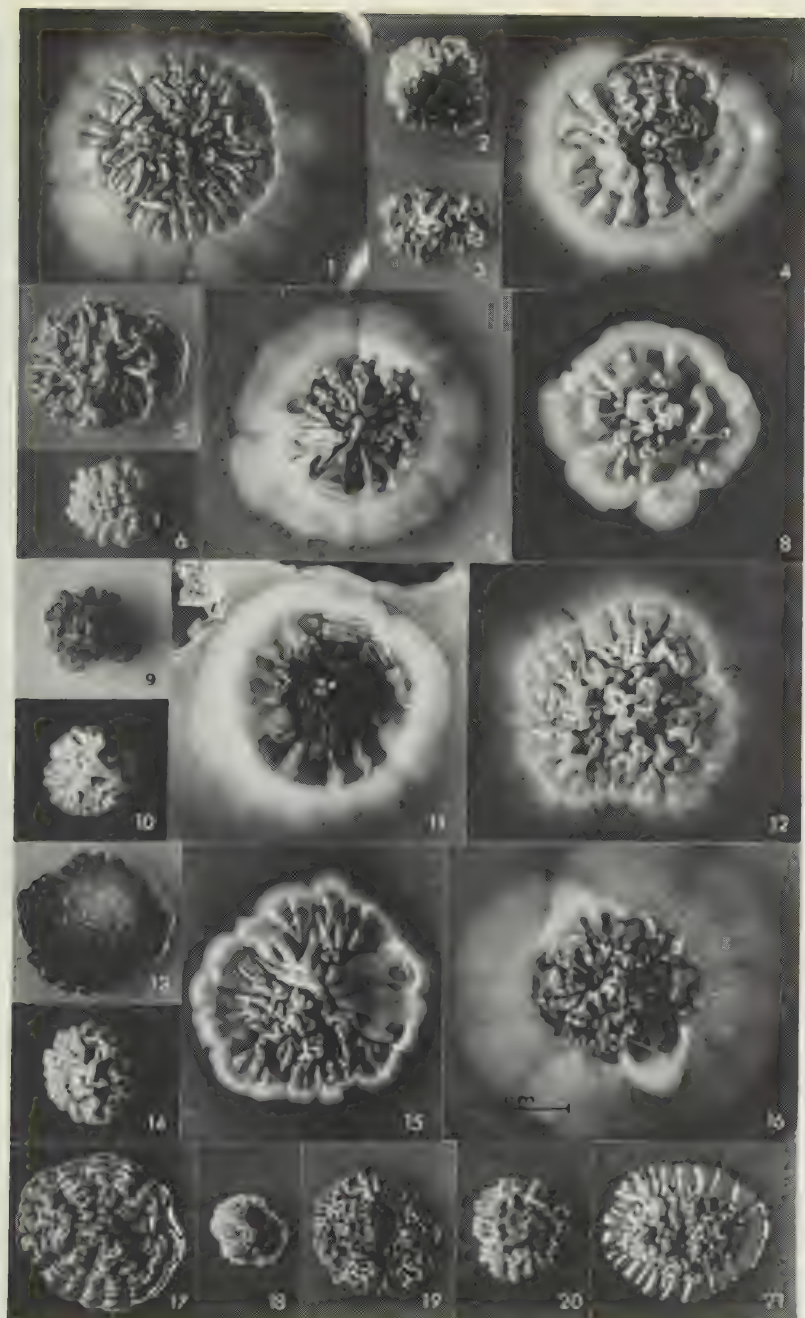
Stämme SB 5, 6, 7, 9, 12, 14, 15 und 16 siehe Tafel 12.



Tafel 16. Actinoplanes, Kolonien.

Stämme SB 28 und SB 33 bis SB 54; 7 bis 9 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Stamm SB 28.- Abb.2. SB 33.- Abb.3. SB 36.-
Abb.4. SB 34.- Abb.5. SB 35.- Abb.6. SB 38.- Abb.7.
SB 37.- Abb.8. SB 39.- Abb.9. SB 40.- Abb.10. SB 41.-
Abb.11. SB 42.- Abb.12. SB 43.- Abb.13. SB 45.- Abb.
14. SB 48.- Abb.15. SB 46.- Abb.16. SB 47.- Abb.17.
SB 50.- Abb.18. SB 51.- Abb.19. SB 52.- Abb.20.
SB 53.- Abb.21. SB 54. Stamm SB 49 siehe Tafel 12.

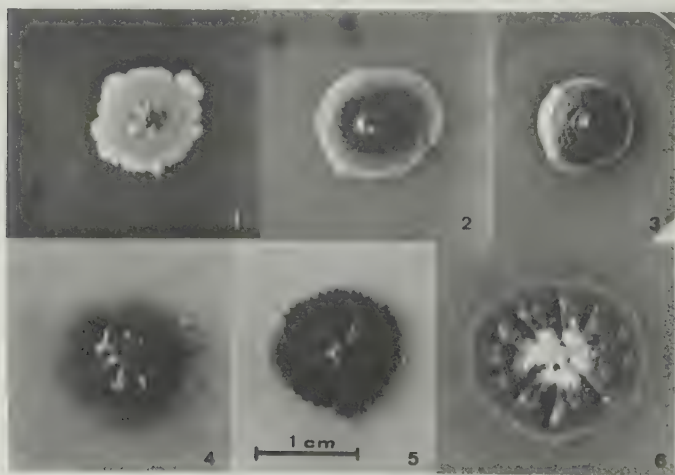




Tafel 17. *Actinoplanes* und *Ampullariella*, Kolonien.

Stämme SE 1 bis SE 4; 6 bis 7 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

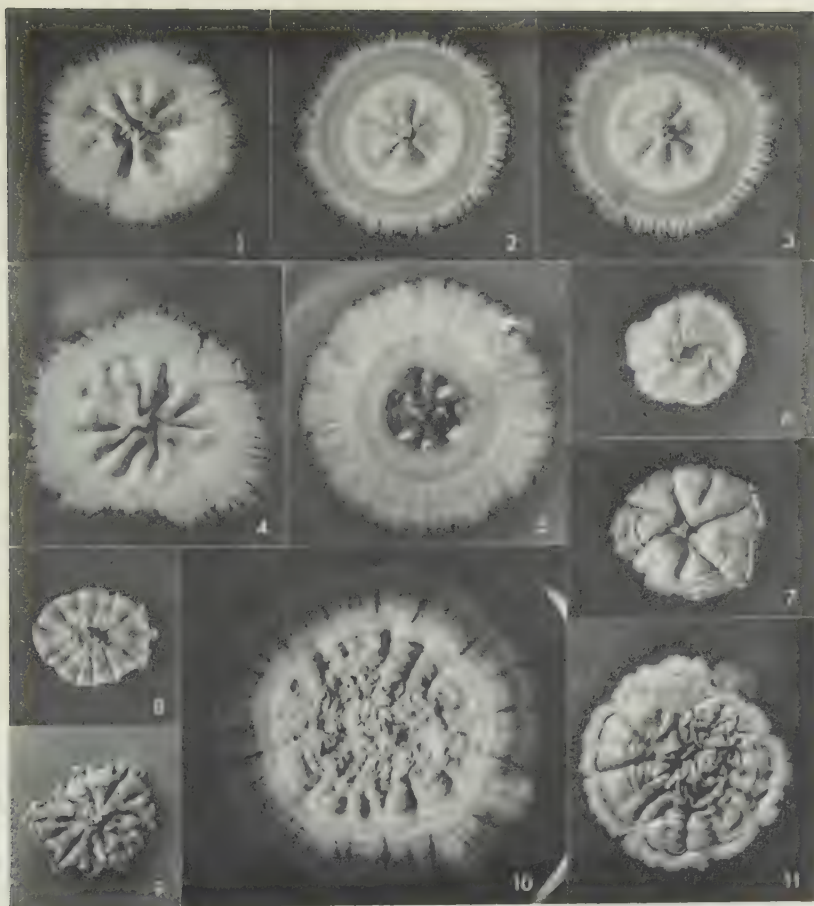
Abb.1. *Ampullariella regularis*, Stamm SE 1.- Abb.2. *Actinoplanes penicillatus*, Stamm SE 2.- Abb.3. *Actinoplanes penicillatus*, SE 3.- Abb.4. *Actinoplanes*, SE 4.



Tafel 18. *Streptosporangium amethystogenes*.

Kolonien auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC) und Haferflocken-Hefe-Agar (HaH).

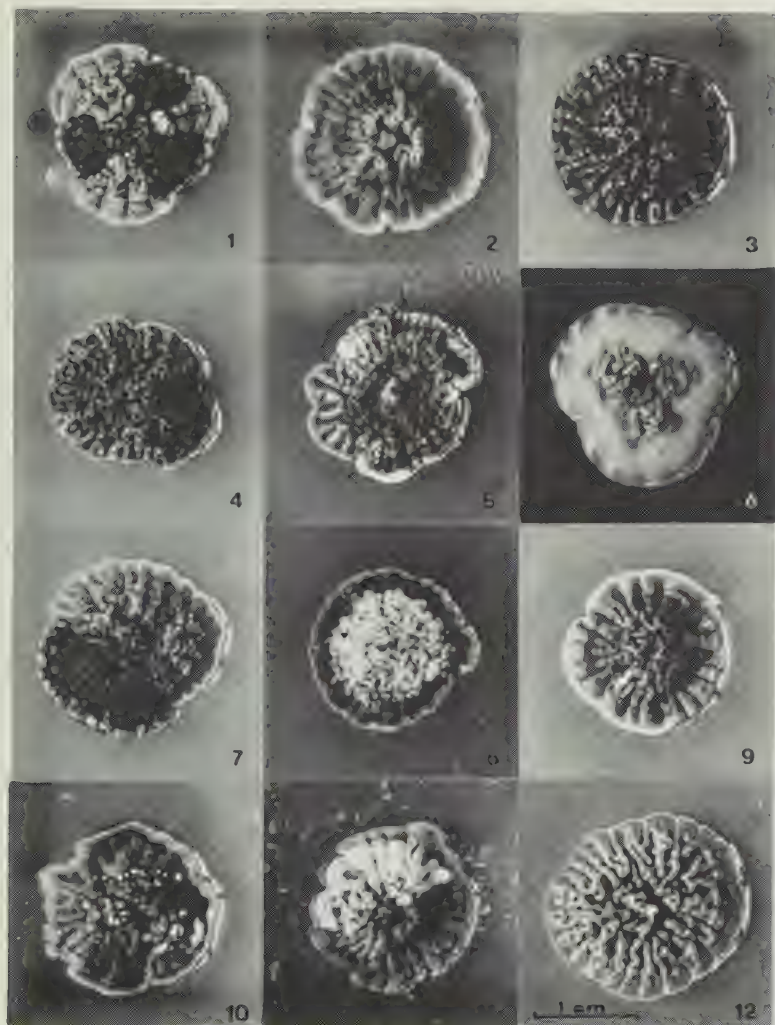
Abb.1. Stamm SS 1, CPC, 8 Wochen.- Abb.2. SS 17, CPC, 8 Wochen.- Abb.3. SS 59, CPC, 10 Wochen.- Abb.4. SS 1, HaH, 10 Wochen.- Abb.5. SS 17, HaH, 10 Wochen.- Abb.6. SS 59, HaH, 6-7 Wochen.



Tafel 19. Streptosporangium-Vergleichsstämme.

Kolonien auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

- Abb.1-4. Streptosporangium roseum, COUCH 27;
Abb.1. 6-7 Wochen alte Kolonie.- Abb.2 und 3.
8 Wochen.- Abb.4. 3 1/2 Monate.
- Abb.5,6. Streptosporangium viridialbum, KCC A-0027;
Abb.5. 3 1/2 Monate.- Abb.6. 6-7 Wochen.
- Abb.7,11. Streptosporangium album, KCC A-0025;
Abb.7. 6-7 Wochen.- Abb.11. 3 1/2 Monate.
- Abb.8,9. Streptosporangium vulgare, KCC A-0028;
Abb.8. 6-7 Wochen.- Abb.9. 3 1/2 Monate.
- Abb.10. Streptosporangium indianensis, KCC A-0053;
6-7 Wochen alte Kolonie.



Tafel 20. *Streptosporangium rubrum*, Kolonien.

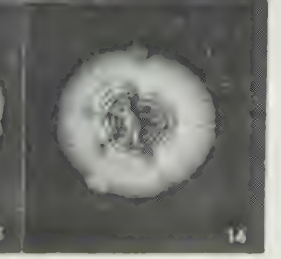
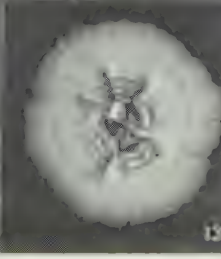
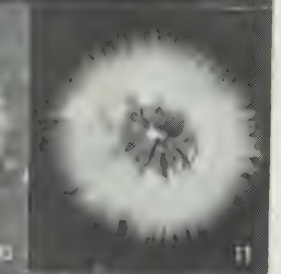
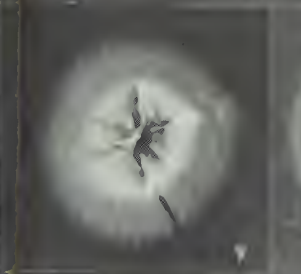
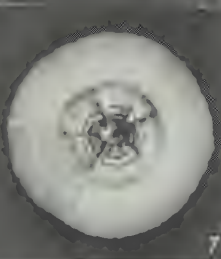
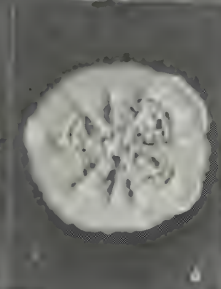
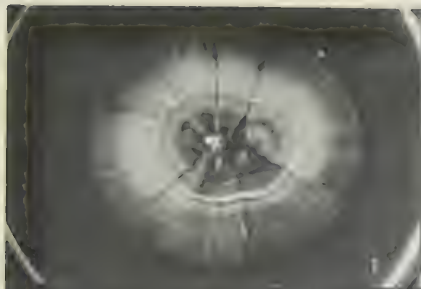
6-8 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Stamm SS 2.- Abb.2. SS 15.- Abb.3. SS 16.- Abb.4.
SS 18.- Abb.5 und 6. SS 25.- Abb.7. SS 27.- Abb.8. SS 29.-
Abb.9. SS 30.- Abb.10. SS 32.- Abb.11. SS 37.- Abb.12.
SS 42.

Tafel 21. Streptosporangium roseum, Kolonien.

6-8 Wochen alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

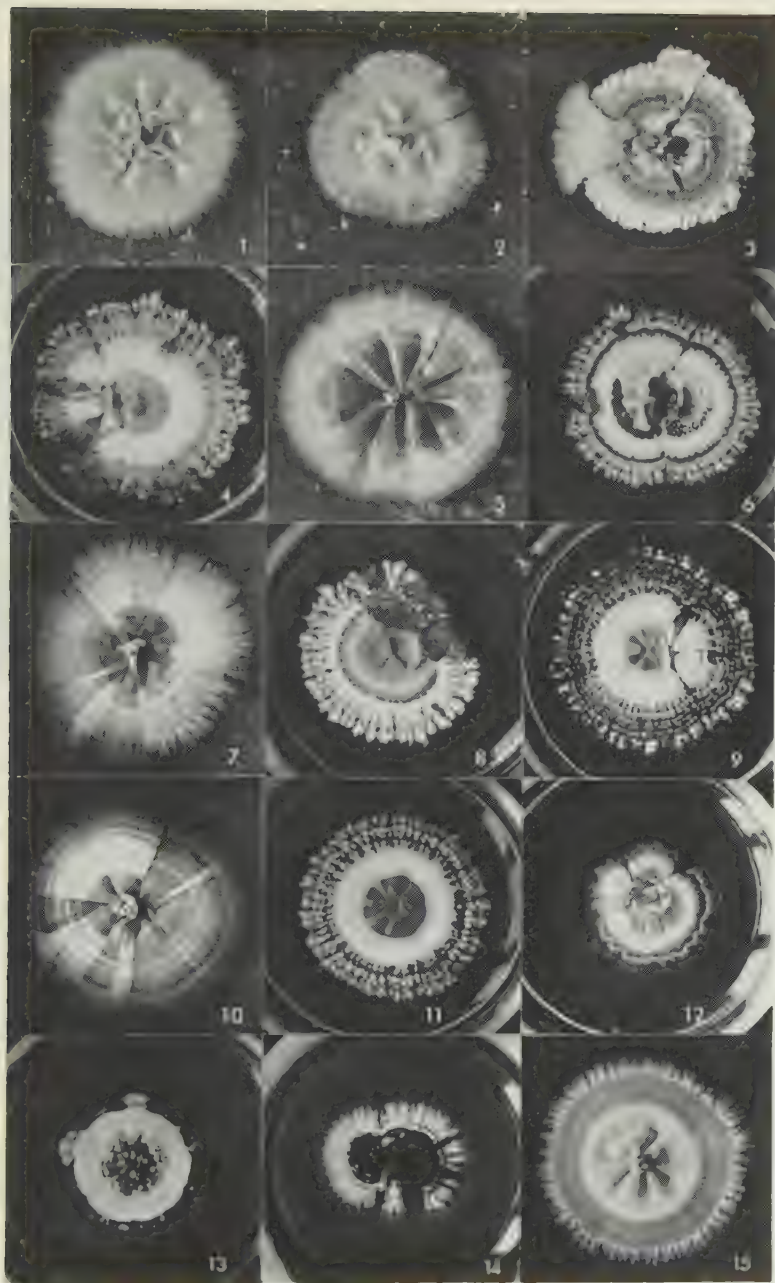
Abb.1. Stamm SS 3.- Abb.2. SS 4.- Abb.3. SS 5.- Abb.4.
SS 6.- Abb.5. SS 8.- Abb.6. SS 9.- Abb.7. SS 10.- Abb.8.
SS 11.- Abb.9. SS 12.- Abb.10. SS 19.- Abb.11. SS 22.-
Abb.12. SS 34.- Abb.13. SS 39.- Abb.14. SS 40.

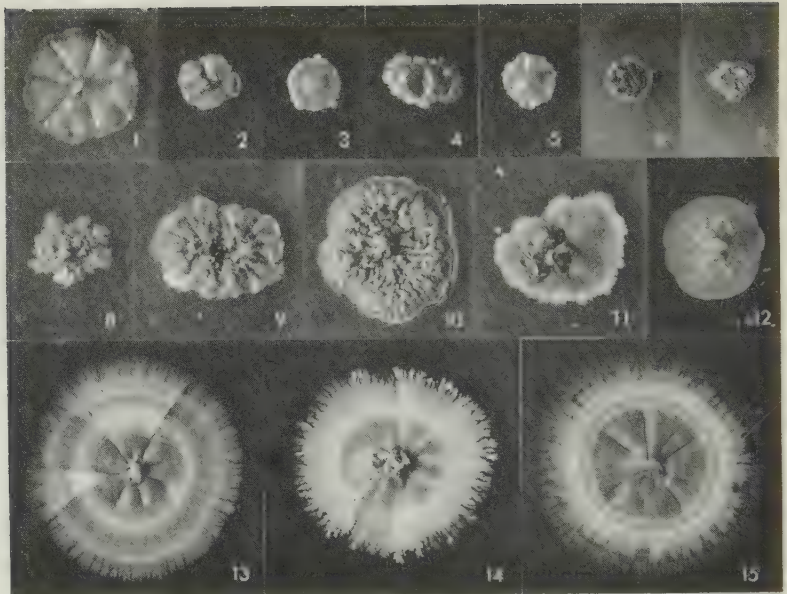


Tafel 22. Streptosporangium roseum, Kolonien.

6 Wochen bis 2 Monate alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Stamm SS 41.- Abb.2. SS 43.- Abb.3. SS 52.- Abb.4.
SS 53.- Abb.5. SS 54.- Abb.6. SS 55.- Abb.7. SS 56.- Abb.8.
SS 57.- Abb.9. SS 60.- Abb.10. SS 61.- Abb.11. SS 62.-
Abb.12. SS 65.- Abb.13. SS 68.- Abb.14. SS 69.- Abb.15.
Vergleichsstamm COUCH 27.

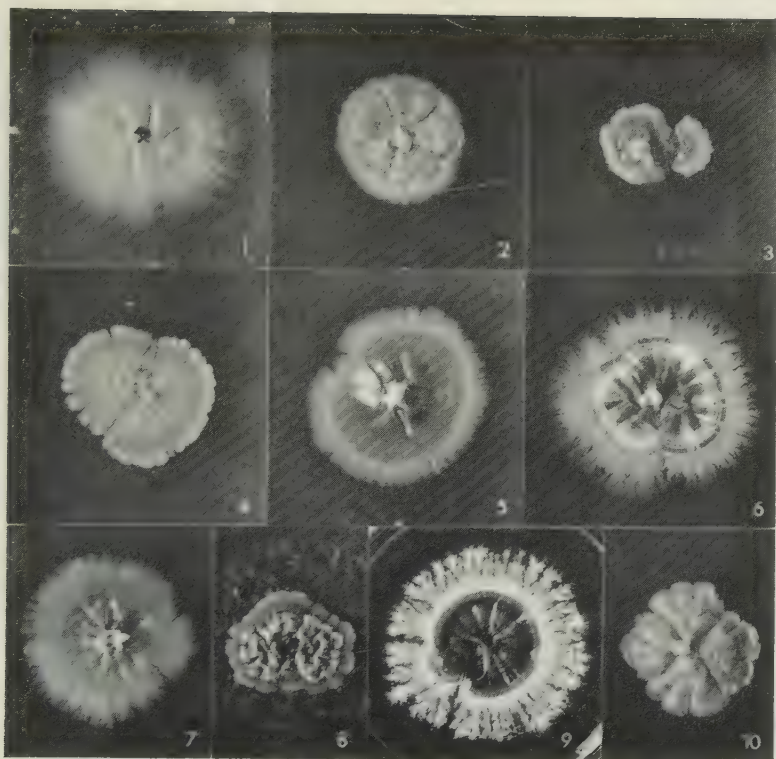




Tafel 23. Streptosporangium, Kolonien.

7 Wochen bis 2 Monate alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Stamm SS 20.- Abb.2. SS 21.- Abb.3. SS 45.- Abb.4. SS 49.- Abb.5. SS 51.- Abb.6 und 7. Streptosporangium longisporum, Stämme SS 66 (Abb.6) und SS 67 (Abb.7).- Abb.8. SS 7.- Abb.9. SS 24.- Abb.10. SS 31.- Abb. 11. SS 35.- Abb.12. SS 38.- Abb.13. SS 14.- Abb.14. SS 28.- Abb.15. SS 63.



Tafel 24. Streptosporangium, Kolonien.

Stämme mit anders als rosa gefärbtem Luftmycel. 7 Wochen bis 2 Monate alte Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar.

Abb.1. Stamm SS 23.- Abb.2. Sts. album, Stamm SS 26.-
 Abb.3. SS 33.- Abb.4. SS 36.- Abb.5. SS 46.- Abb.6.
 SS 47.- Abb.7. SS 48.- Abb.8. SS 50.- Abb.9. SS 58.-
 Abb.10. SS 64.

Tafel 25. *Pilimelia columellifera*, Kolonien.

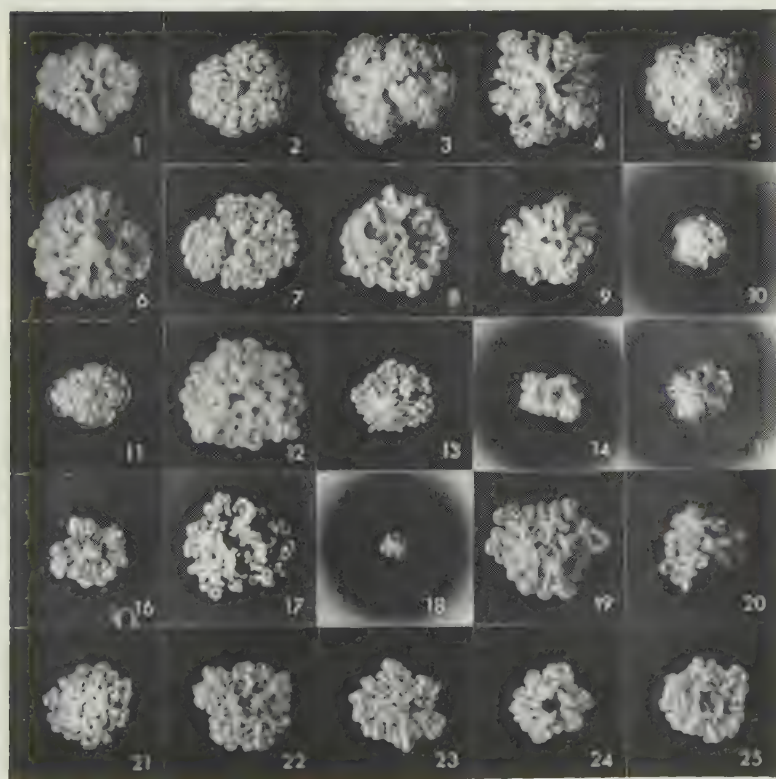
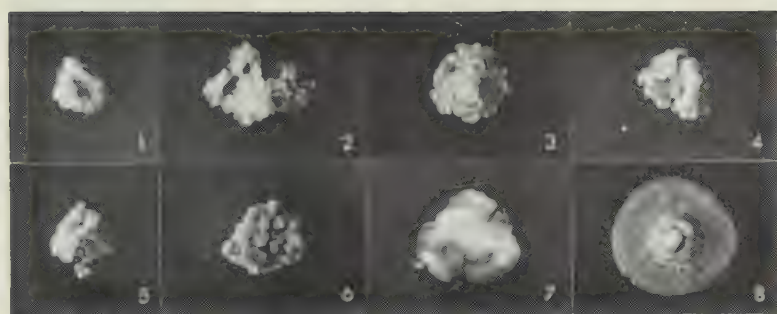
7 Wochen alte Kulturen auf halbkonzentriertem Magermilch-Agar (Ca/2).

Abb.1. Stamm SK 1.- Abb.2. SK 2.- Abb.3. SK 3.- Abb.4. SK 4.- Abb.5. SK 5.- Abb.6. SK 6.- Abb.7 und 8. *Pilimelia columellifera* var. *pallida*, Stämme SK 7 (Abb.7) und SK 8 (Abb.8).

Tafel 26. *Pilimelia*, Kolonien.

Isolate SK 9 bis SK 29 und Vergleichsstämme. 7 Wochen alte Kulturen auf Magermilch-Agar (Ca/2 und Ca).

Abb.1. Stamm SK 9, Ca/2.- Abb.2. SK 10, Ca/2.- Abb.3. SK 11, Ca/2.- Abb.4. SK 12, Ca/2.- Abb.5. SK 13, Ca/2.- Abb.6. SK 14, Ca.- Abb.7. SK 15, Ca/2.- Abb.8. SK 16, Ca/2.- Abb. 9. SK 17, Ca/2.- Abb.10. SK 18, Ca/2.- Abb.11. SK 19, Ca/2.- Abb.12. SK 20, Ca.- Abb.13. SK 21, Ca/2.- Abb.14. SK 22, Ca/2.- Abb.15. SK 23, Ca/2.- Abb.16. SK 24, Ca/2.- Abb.17. SK 25, Ca/2.- Abb.18. SK 26, Ca/2.- Abb.19. SK 27, Ca.- Abb.20. SK 28, Ca.- Abb.21. SK 29, Ca/2.- Abb. 22 und 23. *Pilimelia anulata*, KCC A-0090, Vergleichsstamm; Ca/2.- Abb.24 und 25. *Pilimelia terevasa*, KCC A-0091, Vergleichsstamm; Ca/2.



Tafel 27. Actinoplanes und Ampullariella, Sporangien auf Liquidambar-Pollen.

Abb.1 und 2. Actinoplanes, Stamm SA 10, auf Pollen in Teichwasser; Abb.1: bewachsenes Pollenkorn mit Sporangien unterschiedlicher Größe; Abb.2: stark aufgequollenes Sporangium kurz vor dem Schwärmen der Sporen.

Abb.3 Actinoplanes, Stamm SB 47, auf Pollen in Wasser; unregelmäßig gestaltetes Sporangium.

Abb.4. Actinoplanes, Stamm SA 22, auf Pollen in Erddekot (10 %); Sporangien auf schwimmendem Pollenkorn, dicht über dem Flüssigkeitsspiegel an langen, nach allen Seiten vom Pollen wegwachsenden Hyphen gebildet.

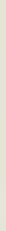
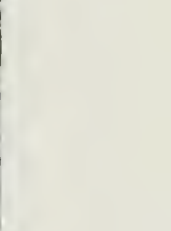
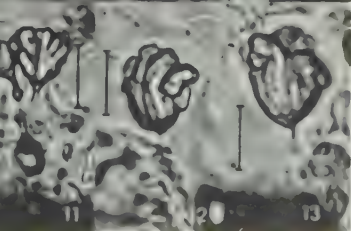
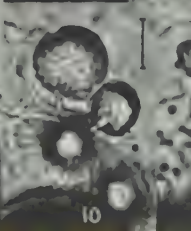
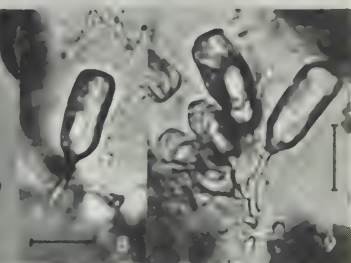
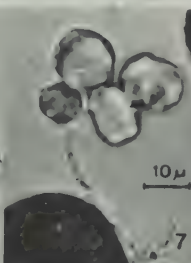
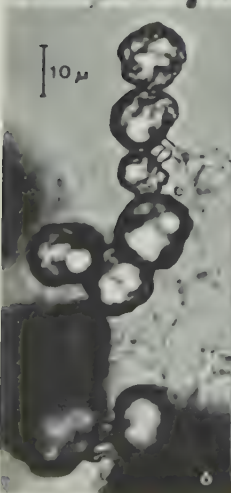
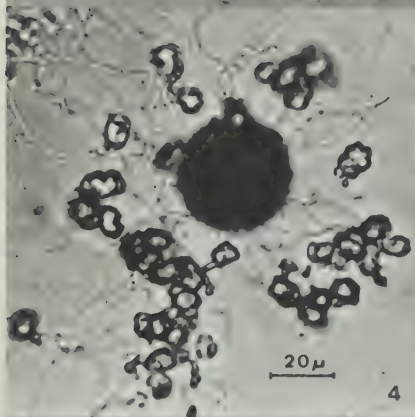
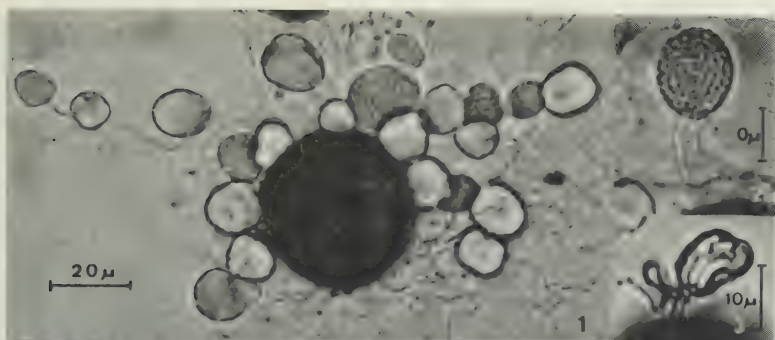
Abb.5, 8 und 9. Ampullariella regularis, Stamm SB 2, auf Pollen in Wasser; Abb.5: Pollenkorn mit mehreren flaschenförmigen Sporangien; Abb.8: einzelnes Sporangium, Traghyphe unverzweigt; Abb.9: Sporangien an stark verzweigter Traghyphe.

Abb.6 und 7. Actinoplanes, Stamm SA 14, auf Pollen in Wasser; leicht unregelmäßig gestaltete Sporangien, in Gruppen an verzweigten Sporangioophoren. Abb.6: Sporangien über den Flüssigkeitsspiegel ragend, daher stark glänzend und mit dunklen Konturen. Abb.7: Sporangien beim Anfertigen des Präparates in Wasser eingeschlossen.

Abb.10. Actinoplanes, Stamm SA 20, auf Pollen in Wasser; kugelige Sporangien mit spiraliger Sporenanordnung.

Abb.11. Ampullariella digitata, Stamm SA 24, auf Pollen in Erddekot (10 %); gefingerte Sporangien.

Abb.12 und 13. Actinoplanes, Stamm SB 36, auf Pollen in Wasser; Sporangien mit unregelmäßiger, durch die vorwiegend längs verlaufenden und z.T. geknäuelten Sporenketten bedingter Oberfläche.



Tafel 28. Actinoplanes, Sporangien.

13 Tage bis 2 Monate alte Kulturen auf halbkonzentriertem Casamino-Pepton-Czapek-Agar mit Zusatz von Gartenerde (CPC/2-E) und auf pulverisierten Hallimasch-Fruchtkörperstückchen in Wasser.

Abb.1 und 2. Stamm SB 51, 13 Tage alte Kultur auf Pilzpulver in Wasser; aufgequollene Sporangien mit längs verlaufenden Sporenreihen, kurz vor dem Schwärmen der Sporen.

Abb.3. Stamm SB 14, CPC/2-E, 7 Wochen; gelapptes Sporangium.

Abb.4. Stamm SB 15, CPC/2-E, 6 Wochen; auf langer Traghyphie über die Agaroberfläche ragendes Sporangium.

Abb.5. Stamm SB 36, CPC/2-E, 2 Monate; Vertikalschnitt durch eine Agarkultur; Sporangien und obere Zone des Substratmycels.

Abb.6. Stamm SA 5, CPC/2-E, 6 Wochen; einzelnes gelapptes Sporangium.

Abb.7. Stamm SB 1, CPC/2-E, 2 Monate; verdickte und in kurzen Abständen mehrfach septierte Substrathyphe.

Abb.8. Stamm SA 14, CPC/2-E, 2 Monate; interkalar verdickte und septierte Substrathyphe.

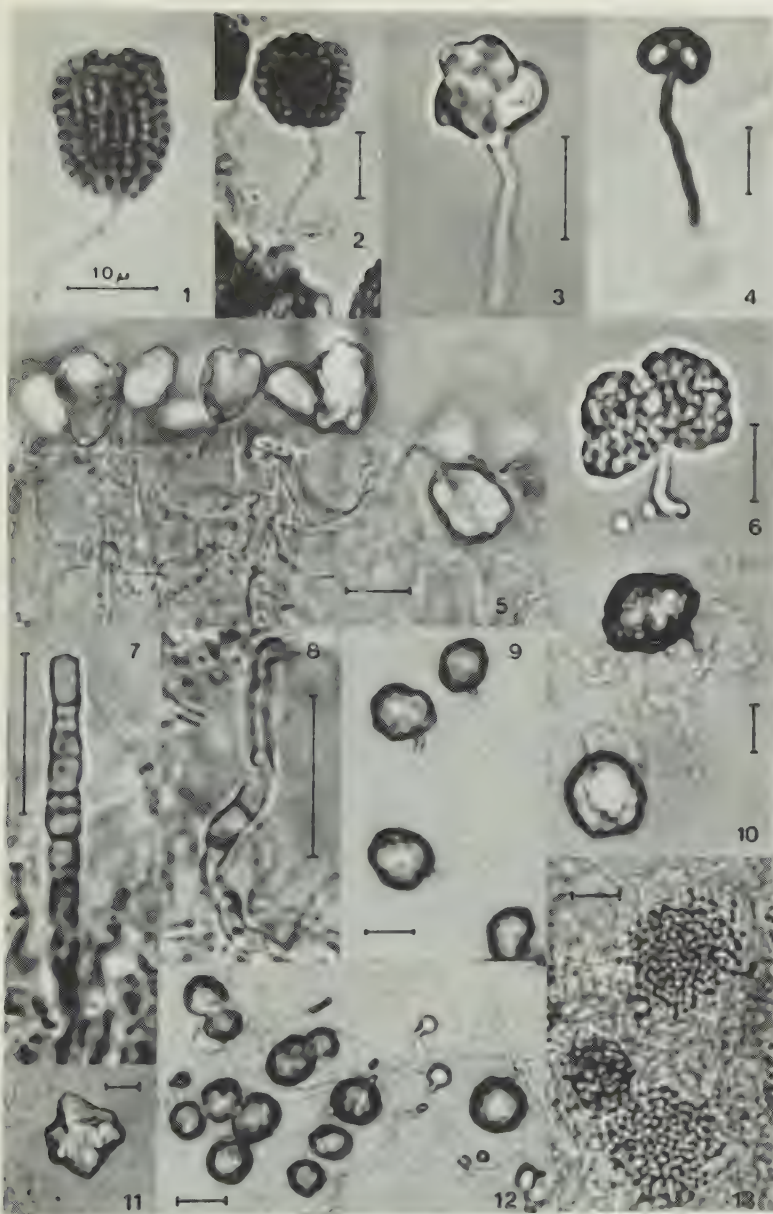
Abb.9. Stamm SB 42, CPC/2-E, 6-7 Wochen; Sporangien auf Agarplatte, an vertikal verlaufenden Substrathypen dicht über der Agaroberfläche gebildet.

Abb.10. Stamm SA 5, CPC/2-E, 3 Wochen; Sporangien auf Agarplatte.

Abb.11. Stamm SB 14, CPC/2-E, 6 Wochen; im Bereich des Mycels gebildeter Kristall.

Abb.12. Stamm SA 15, CPC/2-E, 3 Wochen; kugelige Sporangien unterschiedlichen Alters auf Agarplatte.

Abb.13. Stamm SA 10, CPC/2-E, 3 Wochen; Sporenhaufen auf der Agaroberfläche.



Tafel 29. Ampullariella, Sporangien;

aus 2 bis 11 Wochen alten Kulturen auf Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC), halbkonzentriertem Casamino-Pepton-Czapek-Agar mit Zusatz von Gartenerde (CPC/2-E), Cellulose-Agar (Cl), Hefe-Stärke-Agar (E) und Pinus-Pollen.

Abb.1. Ampullariella regularis, Stamm SB 2, CPC/2-E, 6 Wochen; einzelnes Sporangium mit breiter Trennwand zwischen Traghyph und Sporangium.

Abb.2. Ampullariella regularis, Stamm SE 1, CPC/2-E, 2 Monate; flaschenförmige Sporangien.

Abb.3 und 7. Ampullariella digitata, Stamm SA 25, 2 Wochen alte Kultur auf Pinus-Pollen in Wasser; gefingerte Sporangien.

Abb.4. Ampullariella regularis, Stamm SE 1, Cl, 8 Wochen; äußere Zone des Substratmycel im Vertikalschnitt.

Abb.5. Ampullariella regularis, Stamm SB 5, CPC, Lactophenol-Baumwollblau-Präparat; flaschenförmiges Sporangium, Anordnung und Form der Sporen deutlich erkennbar.

Abb.6. Ampullariella regularis, Stamm SE 1, CPC/2-E, 2 Monate; Doppelsporangium.

Abb.8 und 12. Ampullariella, Stamm SB 4, CPC/2-E, 6 Wochen; stark unregelmäßig gestaltete Sporangien.

Abb.9 und 10. Ampullariella digitata, Stamm SB 31, CPC/2-E, 2 Monate; schmal längliche und gefingerte Sporangien.

Abb.11. Ampullariella campanulata, Stamm SE 89, E, 10 bis 11 Wochen; Sporangien, im Gegensatz zu Ampullariella regularis auf der distalen Fläche höckerig.

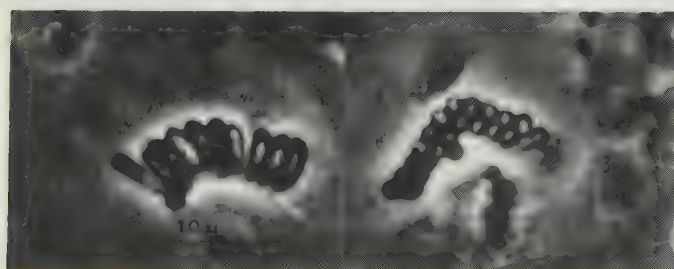
Abb.13. Ampullariella regularis, Stamm SE 1, Cl, 8 Wochen; Sporangien unterschiedlicher Größe und Form.

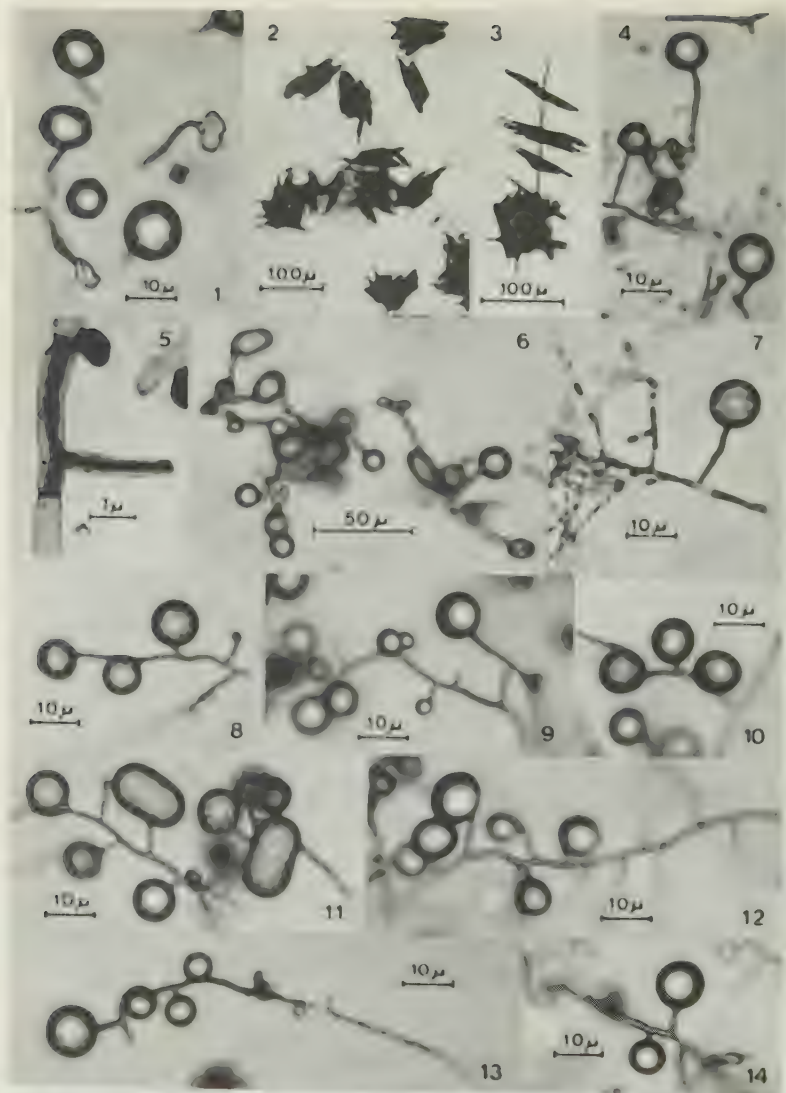
Tafel 30. Planomonospora parontospora, Sporangien;

aus 3 Monate alter Kultur auf Haferflocken-Hefe-Agar; in ZEISS W 15 eingeschlossenes Präparat, Phasenkontrast.

Abb.1. Teil einer bogig gekrümmten Lufthyph, auf der Konvexseite mit zahlreichen länglichen Sporangien besetzt; Seitenansicht.

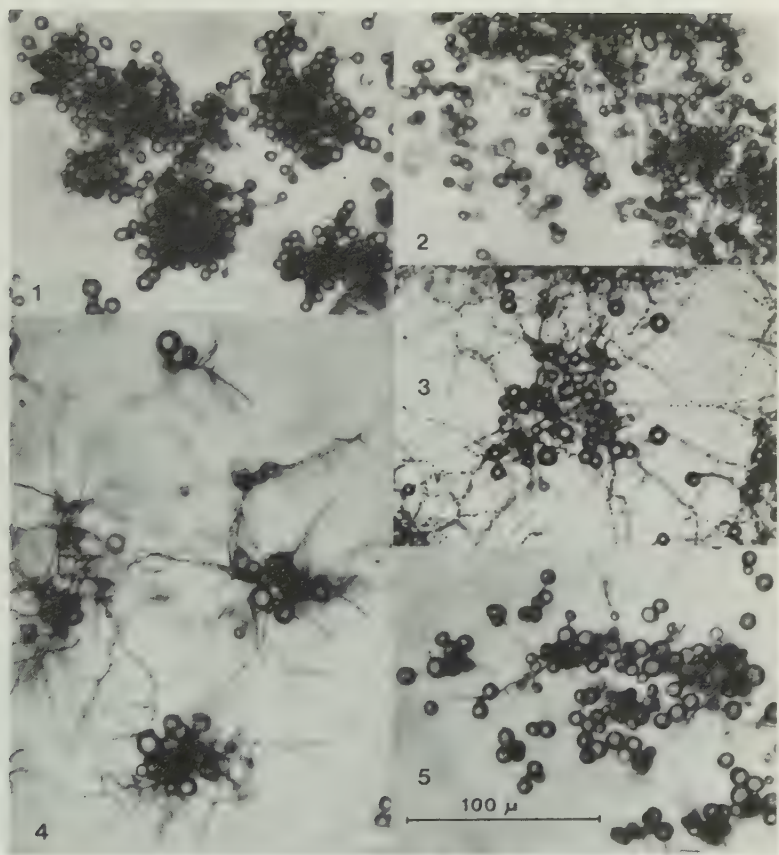
Abb.2. Sporangienendoppelreihe in Aufsicht.





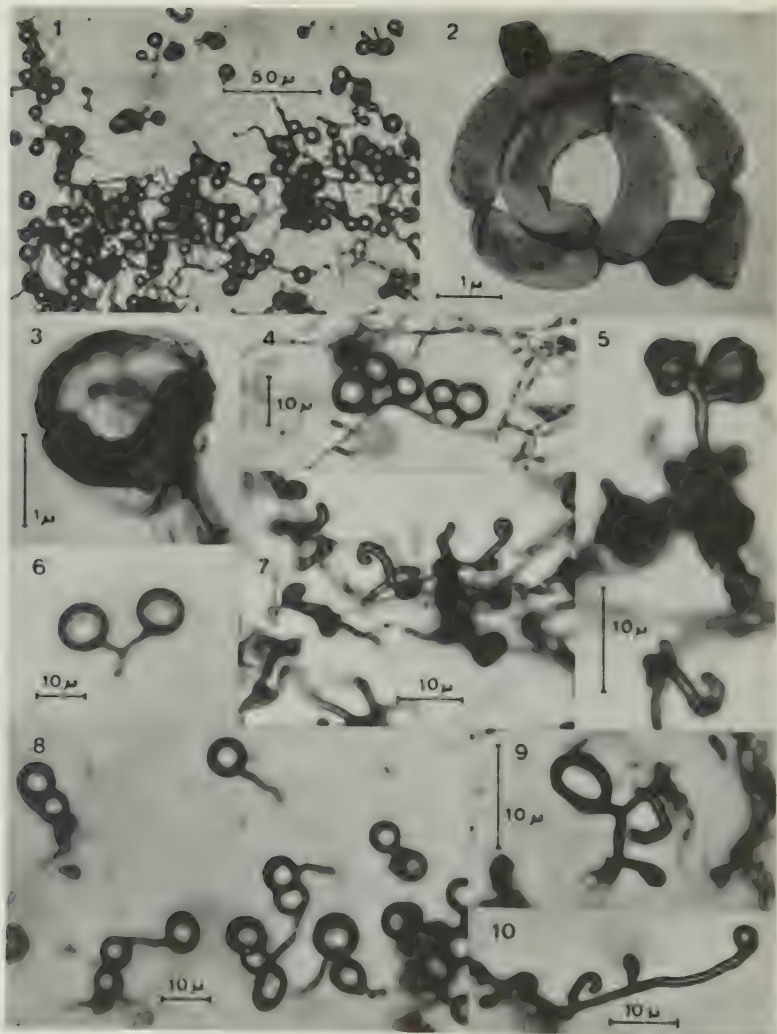
Tafel 31. Streptosporangium; Sporangien, Kristalle.
Plattenkulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar.

Abb.1. Streptosporangium amethystogenes, Stamm SS 1.-
Abb.2 und 3. Sts. amethystogenes, SS 17, Jodininkristalle.- Abb.4. SS 20.- Abb.5. SS 21, septierte Hyphe.- Abb.6.
SS 28.- Abb.7. Sts. rubrum, SS 29.- Abb.8. Sts. roseum,
SS 57.- Abb.9. Sts. rubrum, SS 32.- Abb.10. Sts. rubrum,
SS 42.- Abb.11. Sts. roseum, SS 57.- Abb.12, 14. SS 35.-
Abb.13. Sts. roseum, SS 69.



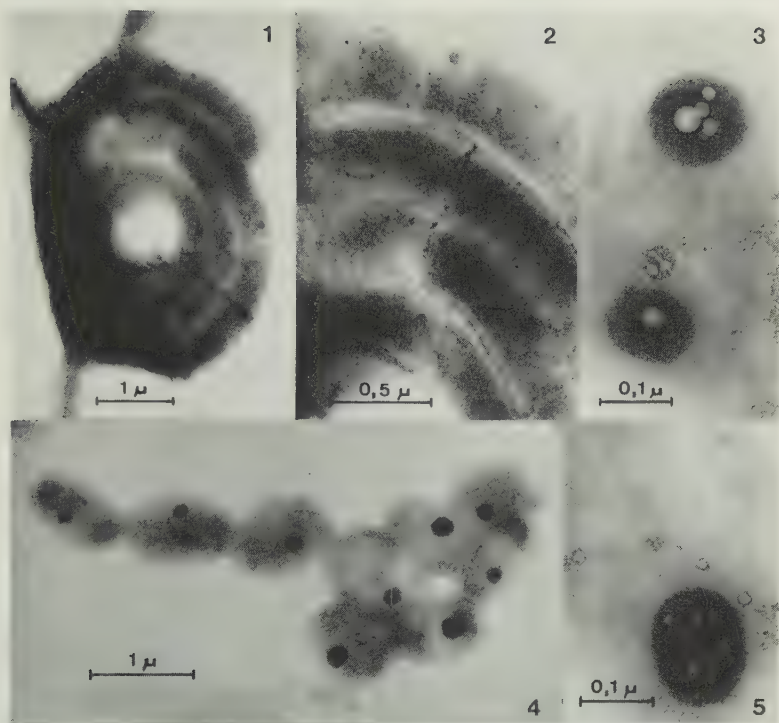
Tafel 32. Streptosporangium; Luftmycel mit Sporangien.
Plattenkulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar.

Abb.1. Streptosporangium roseum, Stamm SS 10, 7 Wochen alte Kultur.- Abb.2. SS 28, 7 Wochen.- Abb.3. Streptosporangium rubrum, SS 29, 9 Monate.- Abb.4. SS 35, 7 Wochen.- Abb.5. Streptosporangium roseum, SS 69, 7 Wochen.



Tafel 22. Streptosporangium-Vergleichsanatome; Sporangien, Sporen, Konidienketten. Plattenkulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar.

Abb.1-3 und 6. *Sts. roseum*, COUCH 27; Abb.1: Sporangien auf Agarplatte, Übersicht, Abb.2 und 3: Sporen, unreif, Teilungen noch nicht abgeschlossen. Abb.4. Sporangien.-Abb.4. *Sts. vulgare*, KCC A-0028; Sporangien. Abb.5, 7, 9 und 10. *Sts. indianesis*, KCC A-0053; gekrümmte Konidienketten; einige stark geknäuelt, dadurch Sporangien vortäuschend (Abb.5). Abb.8. *Sts. album*, KCC A-0025; Sporangien.



Tafel 34. Streptosporangium, unreife Sporen.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von 3 Monate alten Kulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar. Präparate unfixiert.

Abb.1 und 2. Streptosporangium roseum, Stamm SS 6; Abb.1: spiralige Sporenkette aus unreifem Sporangium; Abb.2: Detail von Abb.1.

Abb.3-5. Streptosporangium rubrum, Stamm SS 2; Abb.4: Sporen mit elektronendichten globulären Einschlüssen; Abb.3 und 5: Ausschnittvergrößerungen von Abb.4.

Tafel 35. Pilimelia; Sporangien ohne Columella.

Kulturen auf Mäusehaaren und auf verdünntem Magermilch-Agar (Ca/20-K).

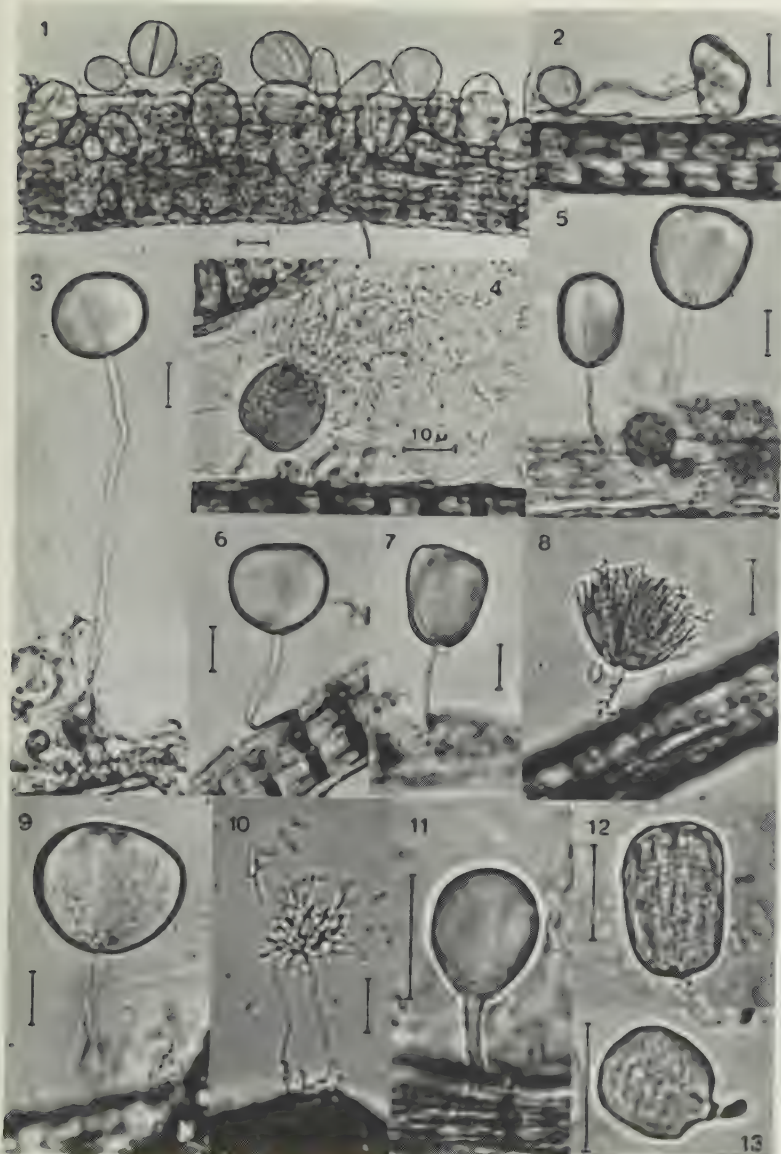
Abb.1 und 2. 5 Wochen alter Köderansatz mit Erdprobe 8; Sporangien auf Mäusehaaren in Wasser.

Abb.3-7. Köderansatz, Erdprobe 84, 5 Wochen; Sporangien unterschiedlicher Gestalt auf Mäusehaaren in Wasser; Abb.4. Sporangium mit schwärmenden Sporen.

Abb.8-10. Stamm SK 15, auf Mäusehaaren in Wasser, 5-6 Wochen; Abb.8: Sporangium, nach längerem Einschluß in Wasser großflächig geöffnet; Abb.9: großes Sporangium; Abb.10: Konidienstand.

Abb.11. Stamm SK 26, auf Mäusehaaren in Mineralsalzlösung mit Zusatz von Casamino Acids (KEC), 3 Wochen; Sporangium.

Abb.12 und 13. Stamm SK 29, Sporangien aus 4 Monate alter Kultur auf verdünntem Milchagar (Ca/20-K).



Tafel 36. *Pilimelia columellifera* (außer Abb.18)

3-7 Wochen alte Kulturen auf Mäusehaaren und auf halbkonzentriertem Milchagar (Ca/2).

Abb.1. Stamm SK 4, 5 Wochen alte Kultur auf Haaren in Wasser über steriler Erde; junge Sporangien.

Abb.2. Stamm SK 6, 6 Wochen alte Kultur auf Haaren in Mineralsalzlösung mit Zusatz von Casamino Acids (KEC); junge Sporangien.

Abb.3 und 4. Stamm SK 4, auf Haaren in KEC, 3 Wochen; junge Sporangien.

Abb.5-8. Stamm SK 6, auf Haaren in KEC, 6 Wochen; Abb.8: leeres Sporangium mit seitlicher Aufrißstelle, Columella auch nach dem Ausschwärmen der Sporen noch deutlich erkennbar.

Abb.9 und 10. 5 Wochen alter Köderansatz mit Erdprobe 82 (SK 8); Sporangien auf Mäusehaaren in Wasser.

Abb.11 und 12. Stamm SK 4, auf Haaren in KEC, 3 Wochen; Konidienstände.

Abb.13. Stamm SK 6, auf Haaren in KEC, 6 Wochen; Konidienstand.

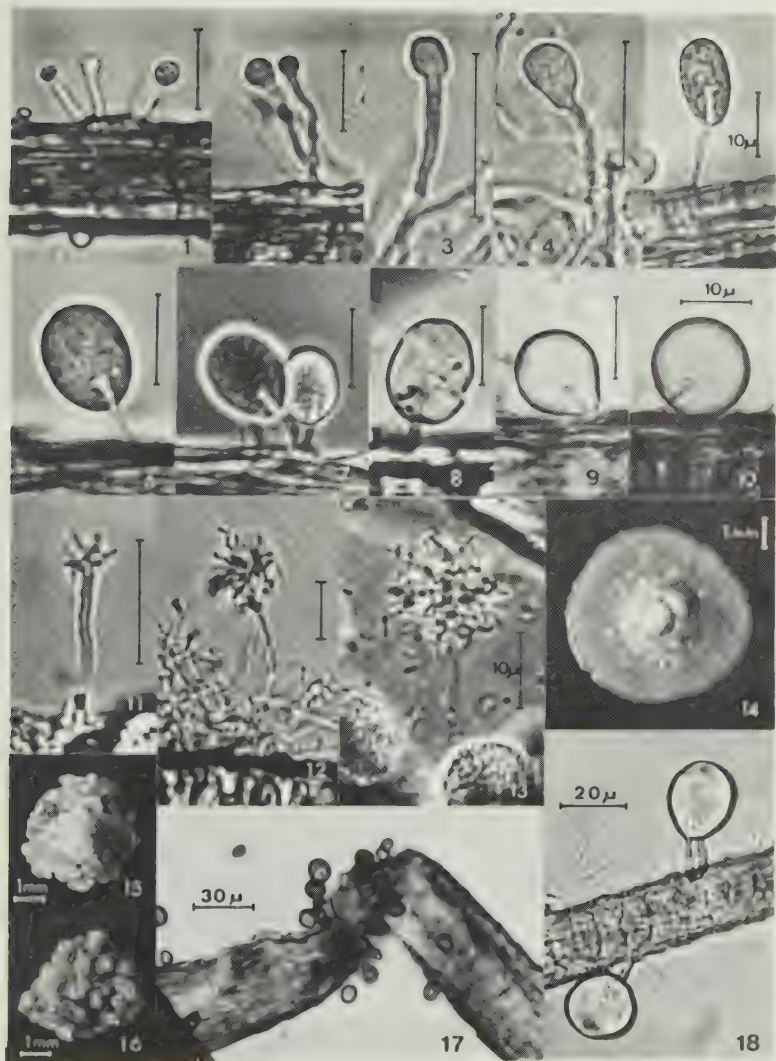
Abb.14. *Pim. columellifera* var. *pallida*, Stamm SK 8; 7 Wochen alte Kolonie auf halbkonzentriertem Milchagar (Ca/2).

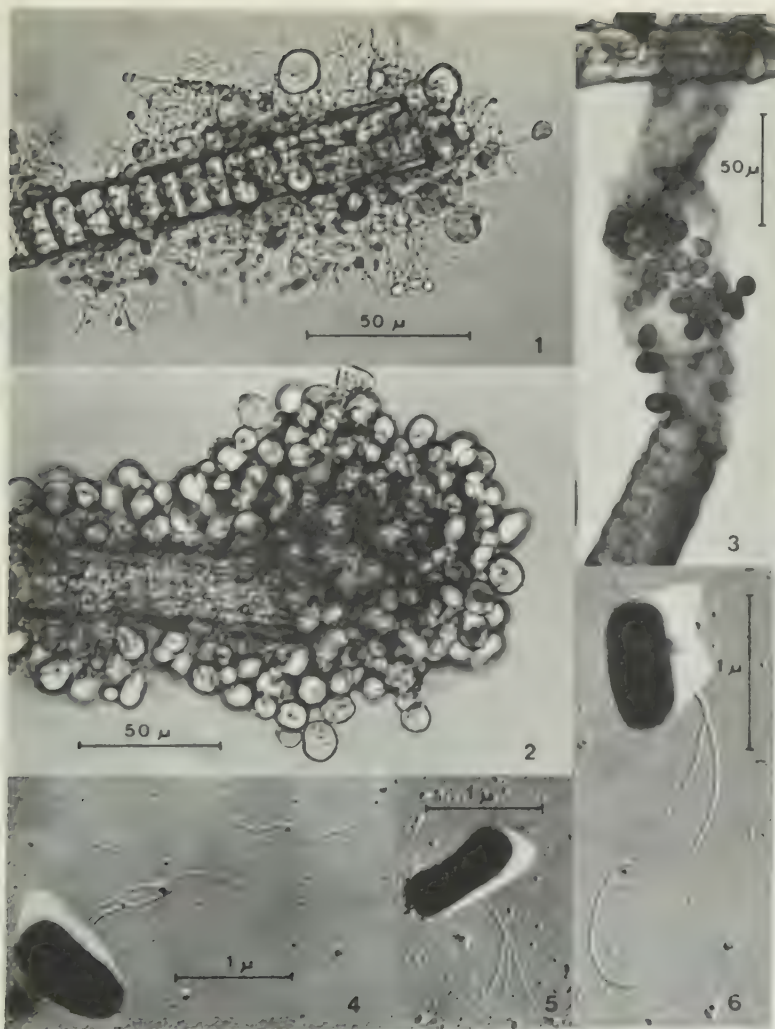
Abb.15. Stamm SK 3; 7 Wochen alte Kolonie auf Ca/2.

Abb.16. Stamm SK 6; 7 Wochen alte Kolonie auf Ca/2.

Abb.17. Stamm SK 6; auf Haaren in KEC, 6 Wochen; mit Baumwollblau schwach angefärbt; Struktur des Haares an der Besiedlungsstelle durch Abbau zerstört.

Abb.18. *Pilimelia terevasa*, Stamm SK 15, auf Haaren in Wasser, 5-6 Wochen; abweichend gestaltetes Sporangium, Sporangiochor infolge mantelförmiger Umschließung durch die Sporangienwand in das Sporangienlumen mit einbezogen und auf diese Weise eine "Columella" bildend.





Tafel 3/7. *Pilimelia columellifera*; Sporangien, Sporen.

Abb.1 und 2. Stamm SK 4, 3 Wochen alte Kultur auf Mäusehaaren in KEC; stark bewachsene Haar-Endabschnitte mit Mycel (Abb.1) und zahlreichen Sporangien (Abb.2).

Abb.3. Stamm SK 6, auf Mäusehaaren in KEC, 6 Wochen, Präparat mit Baumwollblau schwach angefärbt; besiedeltes Haar, an der Befallsstelle stark zersetzt.

Abb.4-6. Stamm SK 6, elektronenmikroskopische Aufnahmen von Sporangiosporen; aus 4 Wochen alter Kultur auf Mäusehaaren in sterilfiltriertem Erdwasser über steriler Erde, geschwärmt in Mineralsalzlösung mit Zusatz von Hefeextrakt (KEH), unfixiert aufgetrocknet, mit Gold-Palladium im Winkel von 30° bedampft.

Tafel 38. Spirillospora rubra.

Abb.1 und 2. Stamm SK 30, Luftmycel mit Sporangien auf halbkonzentriertem Maismehl-Agar mit Zusatz von Garten-erde (CM/2-E); 5 1/2 Monate alte Kultur.

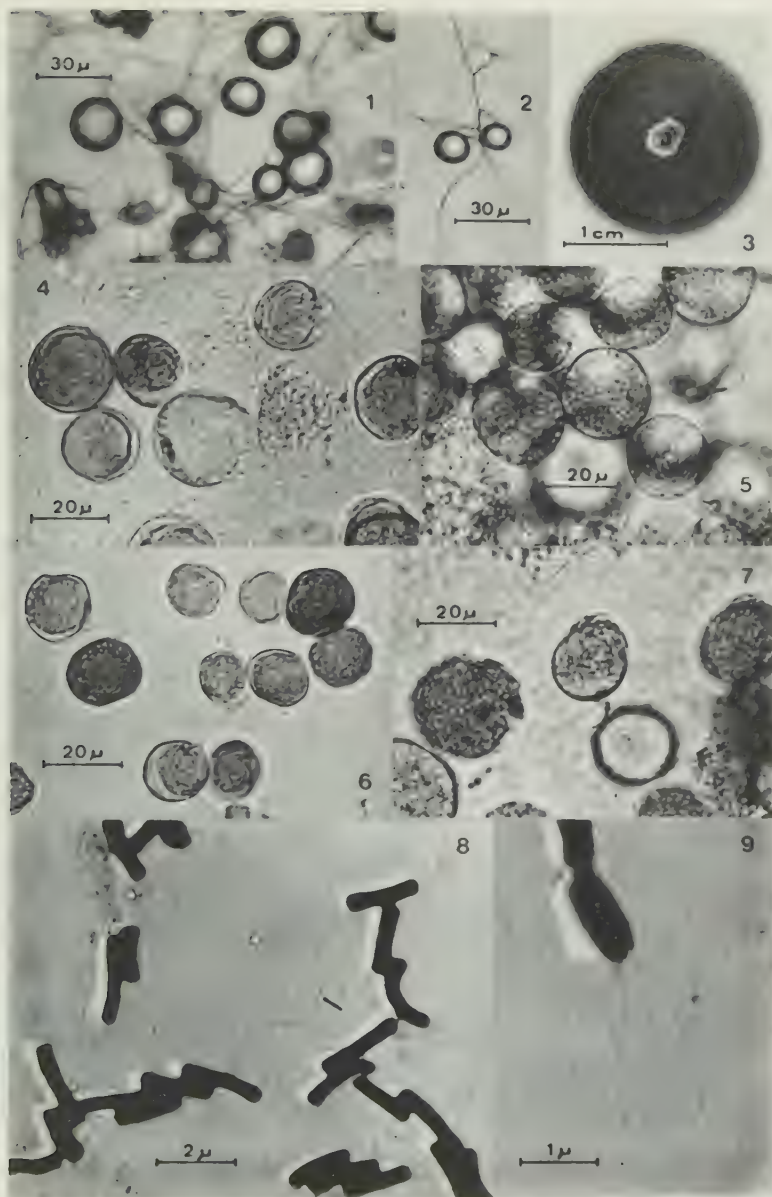
Abb.3. Stamm SK 30, 6-7 Wochen alte Kolonie auf halbkonzentriertem Magermilch-Agar (Ca/2); Casein rings um die Kolonie in breiter Zone peptonisiert.

Abb.4 und 6. Stamm SK 30, Sporangien, aus 5 1/2 Monate alter Kultur auf CM/2-E; Lactophenol-Baumwollblau-Präparat, leicht gequetscht; Sporangieninhalt unter dem Einfluß des Einschlußmittels zum Teil von der Wand abgelöst.

Abb.5 und 7. Stamm SK 31, Sporangien; aus 5 1/2 Monate alter Kultur auf CM/2-E, in Wasser eingeschlossen.

Abb.8. Stamm SK 30, Sporen, aus 12 Wochen alter Kultur auf Stärkeagar; elektronenmikroskopisches Übersichtsbild; Geißeln abgeworfen.

Abb.9. Stamm SK 31, lophotrich begeißelte Spore; aus 4 Monate alter Kultur auf CM/2-E, geschwärmt in Wasser, unfixiert aufgetrocknet, mit Gold-Palladium im Winkel von 30° bedampft.



Tafel 39. *Actinoplanes penicillatus*.

Abb.1-4. Stamm SE 2; Abb.1-3: Sporangien, häufig vorkommende Formen, in Seitenansicht (Abb.1, Mitte; Abb.2 und 3), in Aufsicht (Abb.1 unten) und leer (Abb.1 oben), aus Kultur auf Liquidambar-Pollen in Wasser, Lactophenol-Baumwollblau-Präparat; Abb.4: Sporangiospore, aus 2 Monate alter Kultur auf Haferflocken-Hefe-Agar, geschwärmt in Mineralsalzlösung mit Hefeextraktzusatz (KEH), mit Osmiumtetroxid geräuchert, mit Gold-Palladium im Winkel von 30° bedampft.

Abb.5. Stamm SE 25, Sporangien auf Haferflocken-Hefe-Agar, Lactophenol-Baumwollblau-Präparat.

Abb.6-8. Stamm SE 54, Lactophenol-Baumwollblau-Präparate, aus Kultur auf Haferflocken-Hefe-Agar; Abb.6 und 7: Vertikalschnitte durch den oberen, sporangientragenden Bereich einer Agarkultur; Abb.8: einzelne Sporangien.

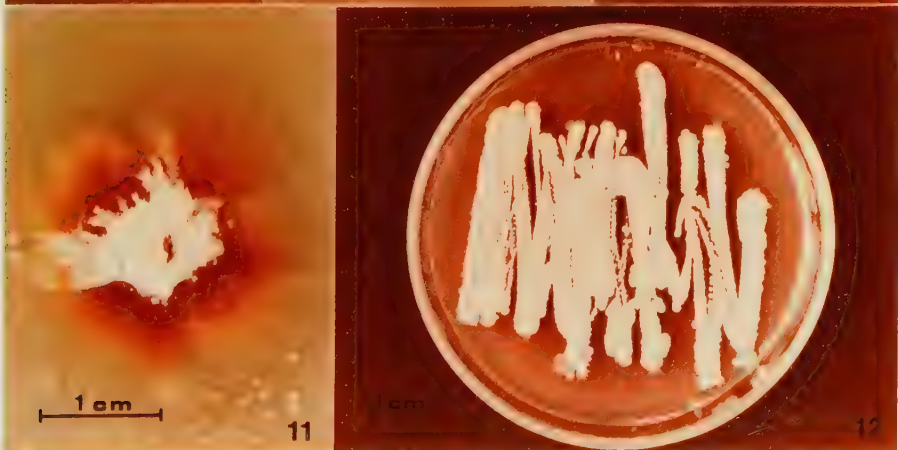
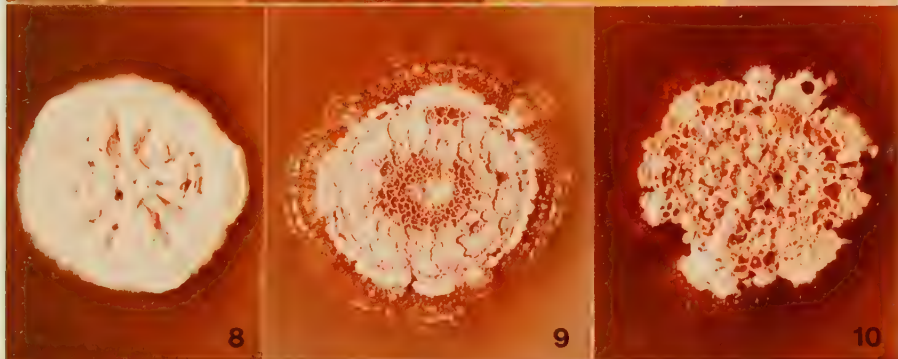
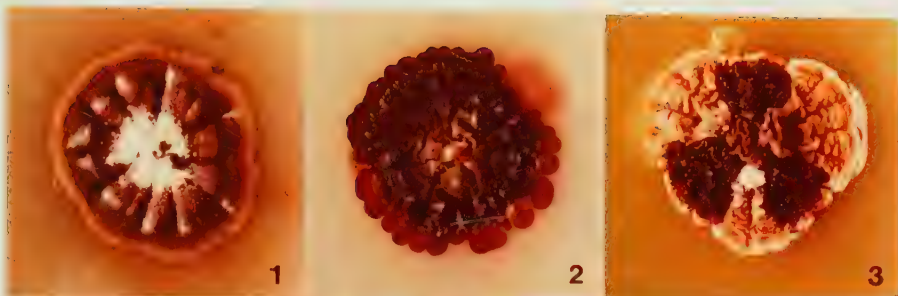
Abb.9-13. Stamm SE 122; Abb.9: aufgeplatzte, leere Sporangien (links und rechts im Bild), aus Kultur auf Hefe-Stärke-Agar, ungefärbtes Präparat; Abb.10: 8 Wochen alte, aus einem einzelnen Sporangium entstandene Kolonie auf verdünntem Milchagar (Ca/5-K); Abb.11: Sporangiosporen, aus Kultur auf Hefe-Stärke-Agar, in ZEISS L 15 eingeschlossen, Phasenkontrast; Abb.12 und 13: Sporangien, aus Kultur auf Hefe-Stärke-Agar, Lactophenol-Baumwollblau-Präparat.



Tafel 40. Streptosporangium, Kolonien.

6 Wochen bis 4 Monate alte Kulturen auf Haferflocken-Hefe-Agar (HaH) und Casamino-Pepton-Czapek-Agar (CPC).

- Abb.1. Streptosporangium amethystogenes, Stamm SS 59, HaH, 6-7 Wochen.
- Abb.2. Sts. rubrum, SS 16, HaH, 10 Wochen.
- Abb.3. Sts. rubrum, SS 2, CPC, 6-7 Wochen.
- Abb.4. SS 20, CPC, 6-7 Wochen.
- Abb.5. SS 21, HaH, 10 Wochen.
- Abb.6. SS 49, HaH, 9-10 Wochen.
- Abb.7. Sts. longisporum, SS 67, HaH, 6-7 Wochen.
- Abb.8. Sts. roseum, SS 6, CPC, 6-7 Wochen.
- Abb.9. Sts. roseum, SS 19, HaH, 10 Wochen.
- Abb.10. Sts. roseum, SS 34, HaH, 10 Wochen.
- Abb.11. SS 28, HaH, 10 Wochen.
- Abb.12. Sts. roseum, SS 40, HaH, 4 Monate.



Frau Professor Dr. A. Henssen danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für ihre stete Hilfsbereitschaft und Förderung.

Danken möchte ich ferner Herrn Professor Dr. K. Kowallik für wertvolle Hilfe bei der Durchführung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen sowie den zahlreichen Bekannten und Freunden - insbesondere Herrn G. Pause -, die mir von ihren Reisen Erdproben mitbrachten.

Gedankt sei auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Am 10. März 1941 wurde ich als Sohn des Lehrers Fritz Schäfer und seiner Ehefrau Sofie, geb. Wetter, in Neuhoof, Kreis Fulda, geboren.

Von Herbst 1947 bis Ostern 1952 besuchte ich die Volksschule am gleichen Ort und anschließend das Realgymnasium (Freiherr-vom-Stein-Schule) in Fulda, an dem ich im März 1961 als Schüler des naturwissenschaftlichen Zweiges die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1961 begann ich das Studium der Fächer Biologie, Chemie und Geographie an der Philipps-Universität Marburg/Lahn.

Die Prüfung in Erziehungswissenschaften für das Lehramt an Gymnasien bestand ich im Februar 1965.

Seit Frühjahr 1966 war ich am Botanischen Institut mit der Anfertigung der vorliegenden Arbeit beschäftigt.

